

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

IRIS JAQUELINI DE MELLO E SILVA HAMMERSCHMIDT

**SÍNTESE DE DERIVADOS GLICOPORFIRÍNICOS
CATIÔNICOS**

**CURITIBA
2012**

IRIS JAQUELINI DE MELLO E SILVA HAMMERSCHMIDT

**SÍNTESE DE DERIVADOS GLICOPORFIRÍNICOS
CATIÔNICOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra M. Woranovicz Barreira

Co-orientador: Prof. Dr. Alan G. Gonçalves

**CURITIBA
2012**

TERMO DE APROVAÇÃO


**ÍRIS JAQUELINI DE MELLO E SILVA
HAMMERSCHMIDT**

**Título: SÍNTESE DE DERIVADOS GLICOPORFIRÍNICOS
CATIÔNICOS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos.


Profª. Dra. Sandra Mara Woranovicz Barreira
Orientadora


Profª. Dra. Ângela Cristina Leal Badaró Trindade
Universidade Federal do Paraná


Prof. Dr. Alexandre Orsato
Université Claude Bernard Lyon 1 (França)

Curitiba, 27 de março de 2012.

Dedico este trabalho à minha família,
por seu amor, incentivo e carinho.
Meu muito obrigada a vocês: Ricardo,
pai Rodolfo, mãe Fátima, Carol e Pri.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada disso seria possível. Ele esteve sempre presente em minha vida, me ajudou e orientou em minhas decisões.

Ao meu marido Ricardo, o qual fez parte deste sonho e colocou todas as suas forças para que o mesmo fosse concretizado.

À minha orientadora Sandra, que mais que um anjo foi uma amiga, uma irmã, me ajudou muito a continuar.

Ao meu co-orientador Alan, que aguentou meus desesperos, teve paciência em me orientar, ficou lado a lado ajudando no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais que sempre fizeram de tudo para eu ter o melhor, ser persistente e a buscar meus sonhos.

Às minhas irmãs Carol e Pri por me aguentarem durante todos esses anos, por seu amor e cuidado comigo. Não posso me esquecer do meu cunhado Alessandro e minha sobrinha Thays que abriram as portas de sua casa para mim.

Aos meus amigos Stephanie, Juliana, Cristiano, Andressa, Andrea, Camila, Amanda, Flávia, Giovana, Gabi, Carol, Suellen, Gedi, Jhuly pelas brincadeiras, ajuda e incentivo.

Meu muito obrigada por aqueles que me apoiaram e também fazem parte da minha família: Carlos, Lourdes, cunhados e cunhadas.

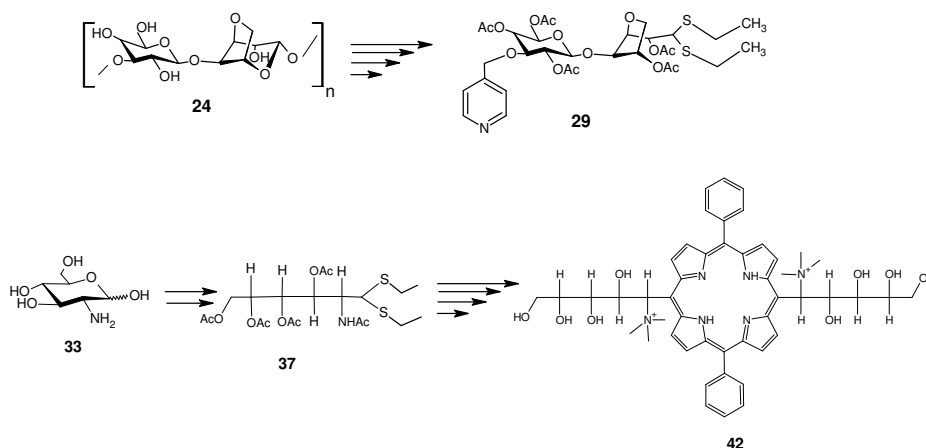
Aos amigos da ginástica e do vôlei. Poxa! Se não fosse este tempinho com vocês.....ficaria tudo mais pesado.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, REUNI, Fundação Araucária, CNPq e Pronex-Carboidratos, pelo apoio financeiro.

RESUMO

A síntese de porfirinas tem sido motivo de estudo já há muitos anos, devido à grande importância desta classe de substância na terapêutica. A conjugação de carboidratos com porfirinas dão às mesmas um caráter anfifílico, além de proporcionar uma possível interação específica com receptores de membrana plasmática. Já a presença de uma porção catiônica neste tipo de composto gera também um caráter anfifílico, onde a carga positiva mostra-se essencial na inativação de micro-organismos e interação com o DNA. A síntese de uma porfirina com porção glicídica cationizada ainda não foi relatada em literatura, havendo somente exemplos de porfirinas com porções glicídicas e catiônicas dispostas de maneira distinta dentro da mesma molécula. Com isto, o presente trabalho teve o objetivo principal de obter este tipo de porfirina, utilizando como material de partida um carboidrato aminado, facilitando assim a cationização da porção glicídica da glicoporfirina obtida. Esta síntese se deu por cinco etapas: (a) utilização da glucosamina para preparação de um derivado peracetilado com a função aldeído protegida na forma dietilditioacetal, (b) obtenção de um dipirrometano através da exposição da função aldeído e subsequente reação com excesso de pirrol, (c) síntese da glicoporfirina em dois passos, utilizando o mesmo meio reacional (c1. ciclocondensação do dipirrometano e benzaldeído na presença de TFA; c2. oxidação do porfirinogênio formado com DDQ), (d) desproteção das hidroxilas e dos grupos amino das porções glicídicas e (e) reação de quaternização do nitrogênio na porção glicídica. Este trabalho também forneceu um segundo intermediário de síntese, o qual pode ser utilizado para a obtenção de uma nova porfirina com porção glicídica cationizada. Neste caso, a agarose foi utilizada como material de partida para a obtenção de um derivado dietilditioacetal piridilado. A reação-chave para obtenção deste intermediário compreendeu a metil-piridilação regioseletiva do oxigênio do carbono 3 do anel galactopiranosídeo, *via* acetal de dibutiestanileno. Tais moléculas contribuirão em futuras investigações utilizando novos fotossensibilizadores tanto em PDI quanto em PDT.

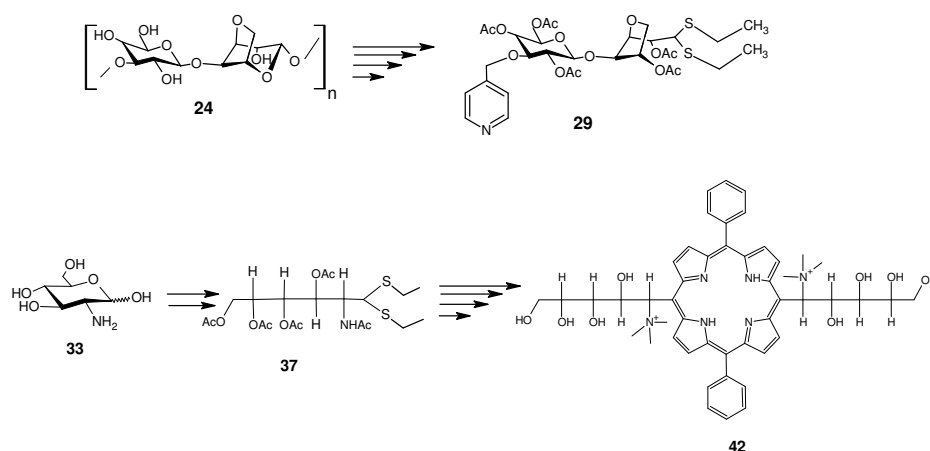
Palavras-chaves: Glicoporfirinas catiônicas. Dipirrometanos. Glucosamina. Acetal de dibutilestanileno.



ABSTRACT

The synthesis of porphyrins has been object of study for several years due to the great applicability of this class of compounds in therapeutics. The conjugation of porphyrins with carbohydrates provides important amphiphilic properties to the resulting glycoporphyrin. Additionally, the sugar moiety may be involved in specific interactions with receptors located at plasmatic membranes. On the other hand, the presence of cationic groups in porphyrins also provides amphiphilicity and the positive charges have been implicated in the inactivation of micro-organisms and interaction with DNA. There are only previously described examples of cationic glycoporphyrins having the glycidic and cationic moiety disposed separately within the porphyrinic structure, while cationized sugar-containing porphyrins are unprecedented in the literature. The present work was then dedicated to synthesize a porphyrinic derivative bearing a cationized sugar moiety using an amino sugar as material. This synthesis was conducted as follows: (a) preparation of peracetylated diethyl dithioacetal protected aldehyde from glucosamine, (b) synthesis of a dipyrromethane by reacting the unmasked peracetylated aldehyde with excess of pyrrole, (c) glycoporphyrin synthesis through a two-step, one-flask procedure (c1: cyclocondensation of the dipyrromethane and benzaldehyde; c2: oxidation of the corresponding porphyrinogen with DDQ), (d) deprotection of the amino and hydroxyl groups and (e) quaternization of the amino groups located at the glycidic portions. This work also employed agarose as starting material for the synthesis of a peracetylated diethyl dithioacetal, bearing a methylpyridil group. The key-step for this intermediate production was the regioselective dibutylstannylene acetal-mediated methylpyridilation at O-3 of the galactopyranosidic ring. Such molecules will help future investigations involving new photosensitizers for both IDP and in PDT.

Keywords: Glycoporphyrins cationic. Dypirrometanes. Glucosamine. Acetal dibutylestanileno.



LISTA DE FIGURAS

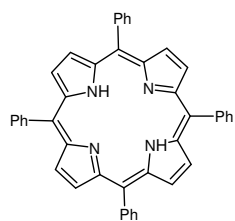
FIGURA 1 – NUMERAÇÃO DAS POSIÇÕES PARA NOMENCLATURA DO MACROCICLO PORFIRÍNICO SEGUNDO FISCHER (A) E IUPAC (B).....	23
FIGURA 2 – NOMENCLATURA DE MACROCICLOS TETRAPIRRÓLICOS (a) CLORINA, (b) PORFIRINOGENIO, (c) BACTERIOCLORINA, (d) FTALOCIANINA.....	24
FIGURA 3: SÍNTESE DE H ₂ TPP USANDO O MÉTODO DE ADLER-LONGO...	25
FIGURA 4: SÍNTESE DE H ₂ TPP USANDO O MÉTODO DE LINDSEY.....	26
FIGURA 5: MECANISMOS (TIPOS I E II) DE GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO PELA COMBINAÇÃO DE LUZ, FOTOSSENSIBILIZADOR E OXIGÊNIO NO ESTADO FUNDAMENTAL (³ O ₂)..	29
FIGURA 6: ESPECTRO DE RMN COSY DO COMPOSTO 39	70
FIGURA 7: ESPECTRO DE RMN HSQC DO COMPOSTO 39	70
FIGURA 8: ESPECTRO DE RMN COSY DA GLICOPORFIRINA 40	76

LISTA DE ESQUEMAS E TABELA

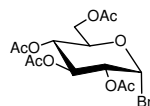
ESQUEMA 1: PLANO DE SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO DE REAÇÃO 29	20
ESQUEMA 2: PLANO DE SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO DE REAÇÃO 37	20
ESQUEMA 3: PLANO DE SÍNTESE PARA A OBTENÇÃO DA GLICOPORFIRINA 40	21
ESQUEMA 4: PLANO DE SÍNTESE PARA A OBTENÇÃO DA GLICOPORFIRINA CATIÔNICA 42	21
ESQUEMA 5: SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA 5	31
ESQUEMA 6: SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA 8	32
ESQUEMA 7: SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA 12	33
ESQUEMA 8: SÍNTESE DA PORFIRINA 13	36
ESQUEMA 9: SÍNTESE DA PORFIRINA CATIÔNICA 14	36
ESQUEMA 10: SÍNTESE DA PORFIRINA CATIÔNICA 18	37
ESQUEMA 11: SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO 20	38
ESQUEMA 12: SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA CATIÔNICA 23	39
ESQUEMA 13: ESTRATÉGIA DE SÍNTESE PARA A OBTENÇÃO DO COMPOSTO 29	43
ESQUEMA 14: SÍNTESE DO COMPOSTO 32	46
ESQUEMA 15: ESTRATÉGIA DE SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO 37	47
ESQUEMA 16: ESTRATÉGIA DE SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA CATIÔNICA 42	50
ESQUEMA 17: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A DESACETILAÇÃO DO COMPOSTO 27	55
ESQUEMA 18: FORMAÇÃO DO INTERMEDIÁRIO ACETAL DIBUTILESTANILENO.....	55
ESQUEMA 19: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DO COMPOSTO 28	56

ESQUEMA 20: SÍNTESE DO COMPOSTO 31	57
ESQUEMA 21: ABORDAGENS SINTÉTICAS PARA A OBTENÇÃO DO COMPOSTO 37 A PARTIR DO COMPOSTO 33	60
ESQUEMA 22: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DO COMPOSTO 34	61
ESQUEMA 23: ESTRATÉGIAS SINTÉTICAS PARA A OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS 34 E 35 E COMPOSTO 37 (VIA N-ACETIL-GLUCOSAMINA).....	62
ESQUEMA 24: ESTRATÉGIAS SINTÉTICAS PARA A OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS 36 E 37 A PARTIR DA GLUCOSAMINA 33	64
ESQUEMA 25: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DO COMPOSTO 36	65
ESQUEMA 26: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DO COMPOSTO 37	66
ESQUEMA 27: SÍNTESE DO COMPOSTO 39 A PARTIR DO COMPOSTO 37	67
ESQUEMA 28: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DO COMPOSTO 39	69
ESQUEMA 29A: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA 40	73
ESQUEMA 29B: MECANISMO DE REAÇÃO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA 40	74
ESQUEMA 30: REAÇÃO DE CATIONIZAÇÃO PROPOSTO PARA A GLICOPORFIRINA 41	77
TABELA 1: ESTUDO DA SÍNTESE DA GLICOPORFIRINA 40	72

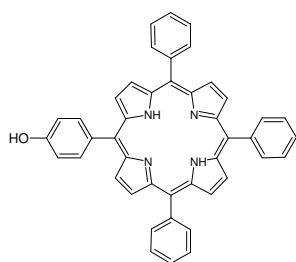
SUMÁRIO QUÍMICO



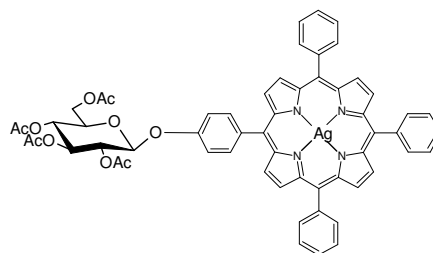
1



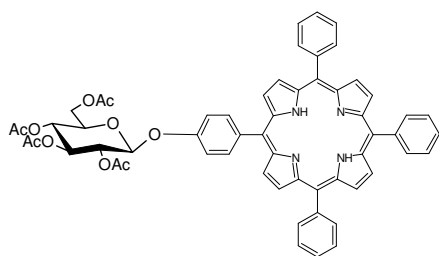
2



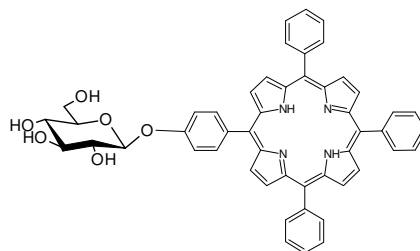
3



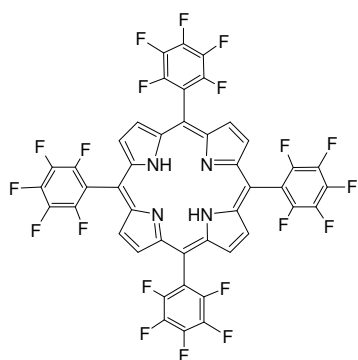
4a



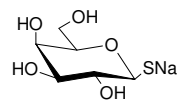
4b



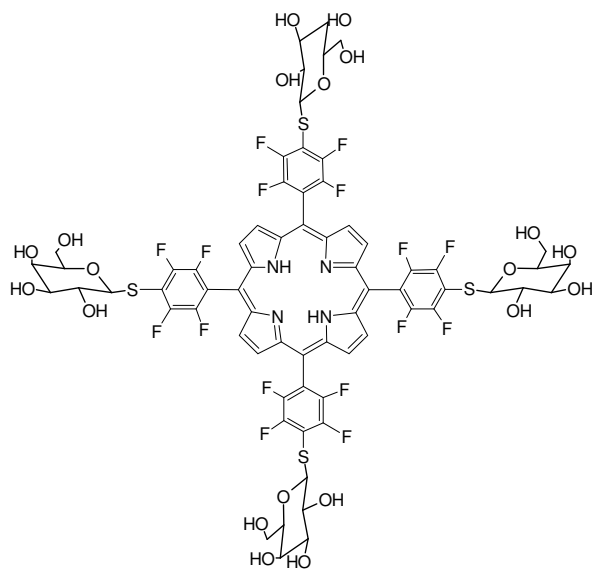
5



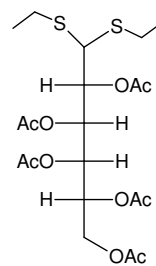
6



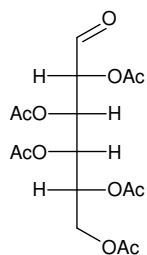
7



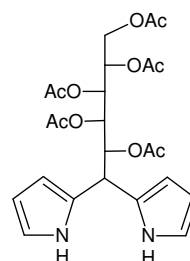
8



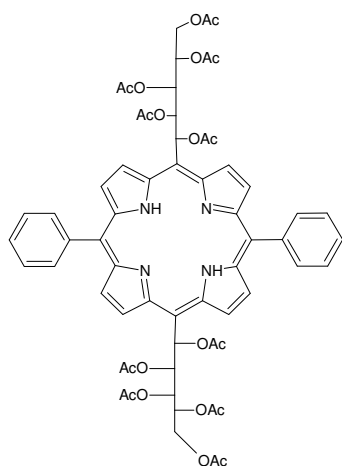
9



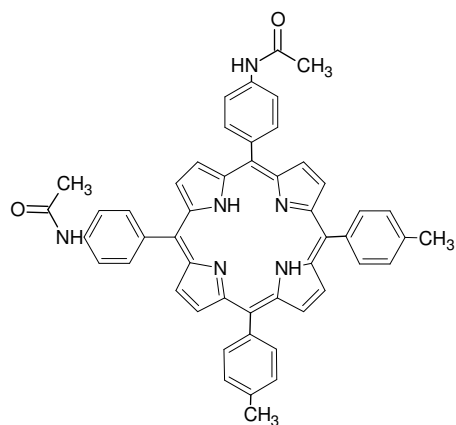
10



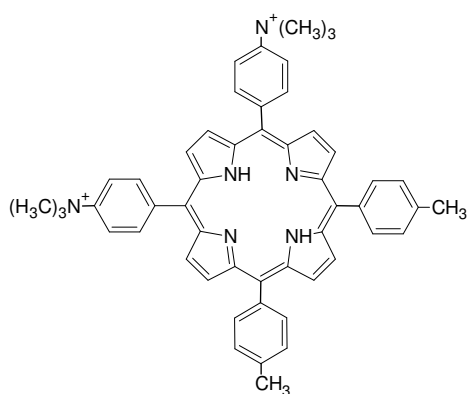
11



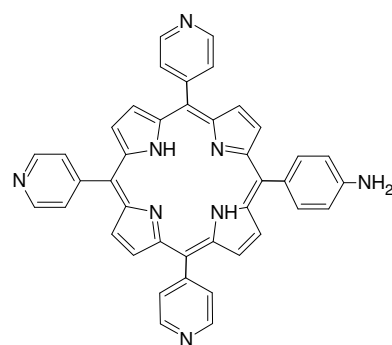
12



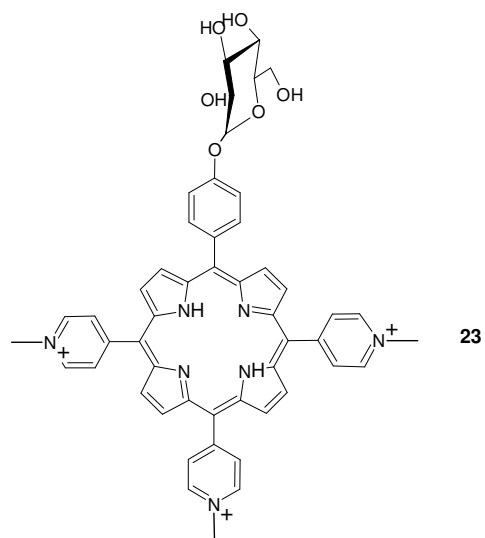
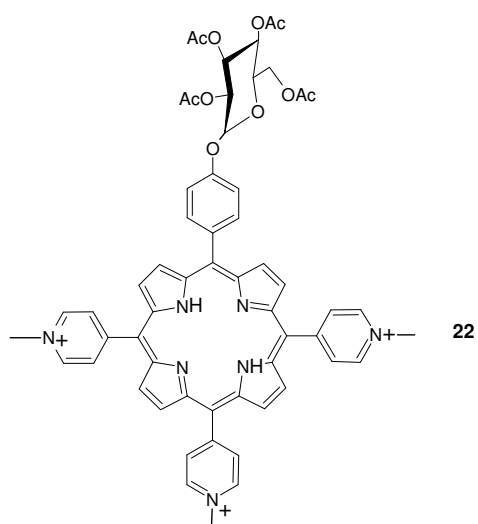
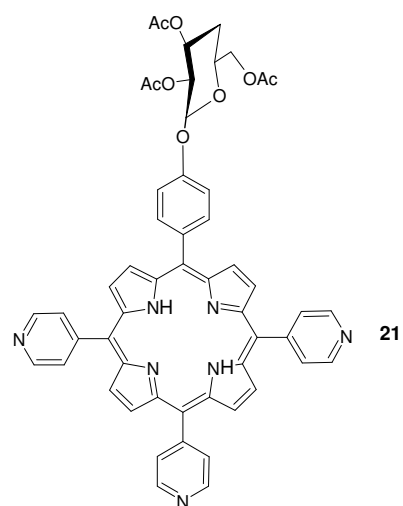
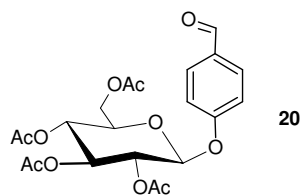
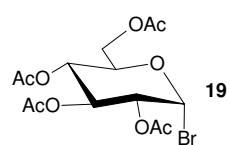
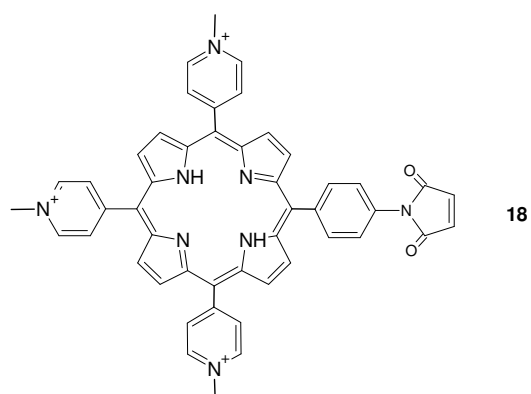
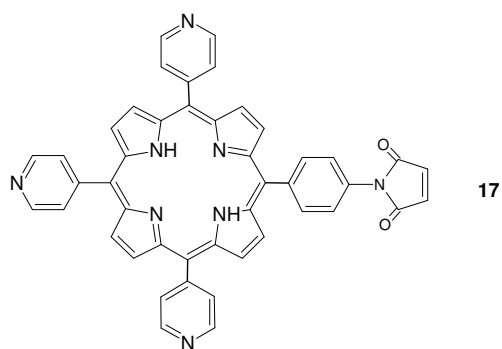
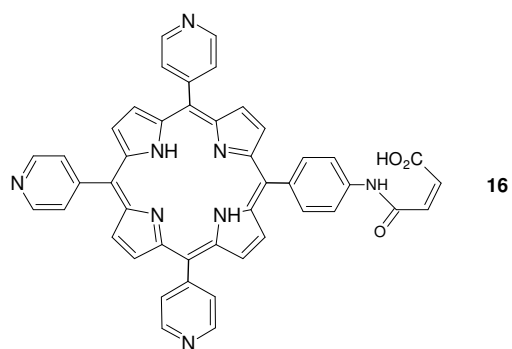
13

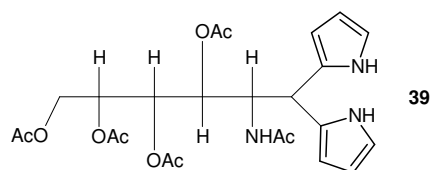
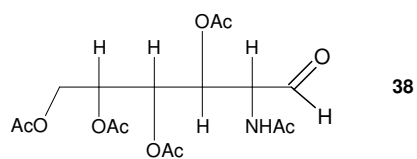
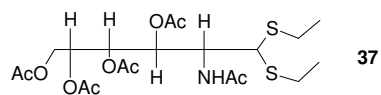
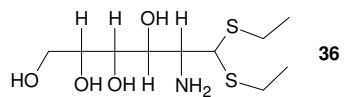
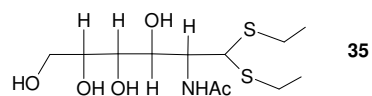
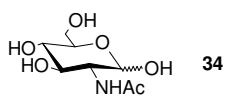
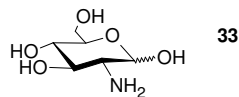
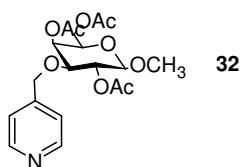
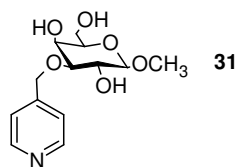
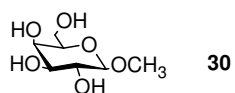
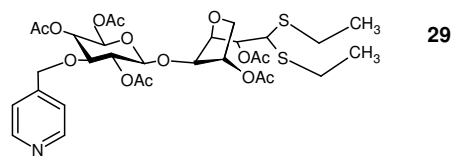
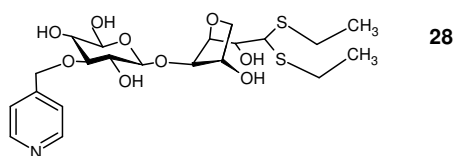
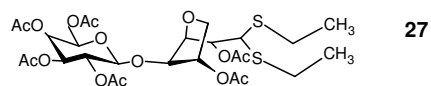
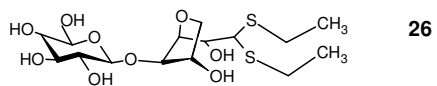
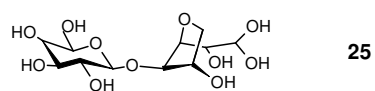
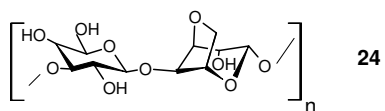


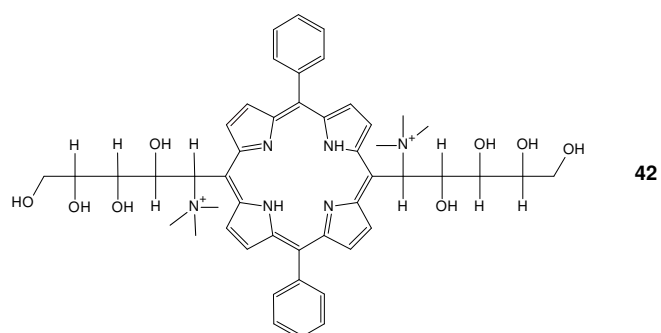
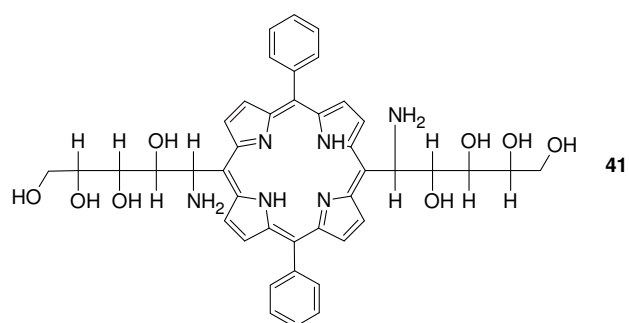
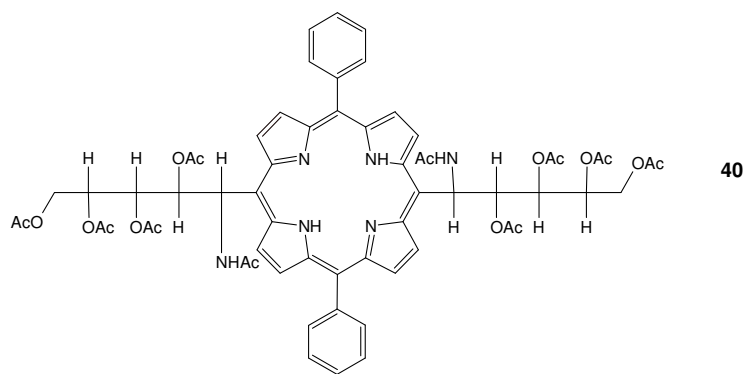
14



15







LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac: Acetil

Ac₂O: Anidrido acético

AcOEt: Acetato de etila

BF₃O(Et)₂: Trifluoreto de boro eterato

Bu₂SnO: Óxido de dibutilestanileno

CCD: Cromatografia em camada delgada

COSY: *Correlation Spectroscopy*

DDQ: 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

DMF: Dimetilformamida

DMSO: Dimetilsulfóxido

ESIMS: *Eletrospray Ionization Mass-Spectrometry*

Et₃N: Trietilamina

Et₂O: Éter etílico

EtSH: Etanotiol

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy*

Hz: Hertz

***i*-PrOH:** Isopropanol

***J*:** Constante de acoplamento

MALDI-TOF: *Matrix-Assisted Laser-Desorption Time Of Flight*

Mel: Iodeto de metila

MeOH: Metanol

N₂: Nitrogênio

NaOMe: Metóxido de sódio

Ph: Fenil

PDT: Terapia fotodinâmica

PDI: Inativação fotodinâmica

RMN ¹³C: Ressonância magnética nuclear de carbono-13

RMN ¹H: Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

SIDA: Síndrome de imunodeficiência adquirida

TBAB: Brometo de tetrabutilamônio

TFA: Ácido trifluoroacético

THF: Tetrahidrofurano

®: Marca registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	OBJETIVO GERAL.....	20
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1	PORFIRINAS	22
2.1.1	Estrutura das porfirinas.....	22
2.1.2	Síntese de porfirinas	25
2.1.3	Aplicações das porfirinas	27
2.2	TERAPIA FOTODINÂMICA.....	27
2.3	GLICOPORFIRINAS	30
2.3.1	Síntese de porfirinas O-glicoconjugadas	30
2.3.2	Síntese de porfirinas S-glicoconjugadas.....	31
2.3.3	Síntese de porfirinas <i>meso-C</i> -1-desoxialditol- e <i>meso-C</i> -glico- substituídas a partir de precursores pirrólicos	32
2.4	PORFIRINAS CATIÔNICAS.....	33
2.4.1	Síntese de porfirinas catiônicas	35
2.5	PORFIRINAS CATIÔNICAS GLICOSILADAS	37
2.5.1	Síntese de uma glicoporfirina catiônica	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1	MÉTODOS GERAIS.....	40
3.1.1	Purificação dos produtos	40
3.1.2	Caracterização estrutural dos produtos	40
3.1.2.1	Técnicas de ressonância magnética nuclear monodimensional.....	40
3.1.2.2	Técnicas de ressonância magnética nuclear bidimensional.....	41
3.1.2.3	Técnicas de espectrometria de massas.....	41
3.1.3	Preparo de soluções.....	42
3.2	SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO A PARTIR DA AGAROSE	43
3.2.1	Obtenção da agarose	43
3.2.2	Hidrólise parcial da agarose	43
3.2.3	β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal (26)	44
3.2.4	2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal 27	44
3.2.5	3-O-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal 28	45
3.2.6	2,4,6-Tri-O-acetil-3-O-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal 29	45

3.3 ESTUDO DA REAÇÃO DE ALQUILAÇÃO REGIOSELETIVA DO β -D GALACTOPIRANOSÍDEO DE METILA COM O AGENTE ALQUILANTE 4-BROMOMETILPIRIDINA.....	46
3.3.1 3-O-(piridin-4il-metil)- β -D-galactopiranosídeo de metila 31	46
3.3.2 2,4,6-Tri-O-acetil-3-O-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosídeo de metila 32	47
3.4 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO A PARTIR DA GLUCOSAMINA	47
3.4.1 Obtenção da glucosamina	47
3.4.2 2-Acetamido-2-desoxi-D-glucose 34	47
3.4.3 2-Acetamido-2-desoxi-D- glucose dietilditioacetal 35	48
3.4.4 2-Amino-2-desoxi- D -glucose dietilditioacetal 36	48
3.4.5 3,4,5,6-Tetra-O-acetil-2-acetamido-2-desoxi- D -glucose dietilditioacetal 37 ..	49
3.5 SÍNTESE DO MACROCICLO PORFIRÍNICO A PARTIR DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO DA GLUCOSAMINA.....	50
3.5.1 3,4,5,6-Tetra-O-acetil-2-acetamido-2-desoxi- <i>aldeído</i> - D -glucose 38	50
3.5.2 3,4,5,6-Tetra-O-acetil-2-acetamido-1,2-didesoxi-1,1-dipirril- D -glucocitol 39 .	51
3.5.3 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-3,4,5,6-tetra-O-acetil-2-acetamido-2-desoxi- D -glucitol]porfirina 40	51
3.5.4 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-2-amino-2-desoxi- D -glucitol]porfirina 41	52
3.5.5 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-2-trimetilamônio-2-desoxi- D -glucitol]porfirina 42	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1 INTERMEDIÁRIOS DE SÍNTESE DE GLICOCONJUGADOS	53
4.1.1 Obtenção do intermediário de síntese 29 a partir da agarose	53
4.1.2 Síntese do intermediário 37 a partir da glucosamina 33	59
4.1.2.1 Preparo do composto 28 <i>via</i> N-acetil-glucosamina (34).....	60
4.1.2.2 Preparo do composto 37 diretamente a partir da glucosamina (33).....	63
4.2 SÍNTESE DO MACROCICLO PORFIRÍNICO 42 A PARTIR DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO DA GLUCOSAMINA 37	66
4.2.1 Oxidação seletiva do composto 37 : preparação do aldeído 38 para a síntese do dipirrometano 39	66
4.2.2 Síntese da glicoporfirina 40	71
4.2.3 Desacetilação da glicoporfirina 40	76
4.2.4 Reação de cationização: obtenção da glicoporfirina catiônica 42	77
5 CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXOS.....	86

1 INTRODUÇÃO

As porfirinas pertencem a uma classe de moléculas orgânicas com estrutura geral de macrociclo tetrapirrólico (formado por quatro anéis pirrólicos), unidos por grupos metínicos ($=CH-$). Essas moléculas e seus derivados ocorrem frequentemente na natureza e participam de muitos processos biológicos (JIAO, 2007). Os compostos porfirínicos têm demonstrado potencialidade em vários campos científicos, com principal destaque para aplicações medicinais, como na terapia fotodinâmica (PDT, *photodynamic therapy*) (CALVETE; GOMES; MOURA, 2009), devido às suas propriedades fotocatalíticas (DRIAF *et al.*, 1996). Nos últimos anos tem-se desenvolvido novos métodos capazes de converter porfirinas em derivados com características estruturais e espectroscópicas adequadas para diferentes aplicações (CALVETE; GOMES; MOURA, 2009).

Os derivados porfirínicos são fotossensibilizadores já utilizados na PDT, sendo esta terapia baseada na concentração do fotossensibilizador nas células alvo e, com a irradiação subsequente com luz visível, na presença de oxigênio, estas são destruídas (DRIAF *et al.*, 1996). O mecanismo pelo qual a destruição celular ocorre é principalmente através do rompimento celular, mitocondrial ou da membrana nuclear por agentes citotóxicos formados, como por exemplo, o oxigênio singlete (TOMÉ *et al.*, 2005).

A PDT vem sendo utilizada para tratamento de câncer, da psoríase e na degeneração macular senil (TOMÉ *et al.*, 2005). No caso do processo fotodinâmico envolver a inativação de micro-organismos e vírus, a denominação mais utilizada é inativação fotodinâmica (PDI, *photodynamic inactivation*).

As principais vantagens associadas ao uso da PDT em relação à quimioterapia são: a ação farmacológica pode ser “ligada e desligada” desde que nenhuma reação ocorra na ausência de luz; o tempo de duração da ação pode ser controlado; tanto o fotossensibilizador quanto a luz podem ser seletivamente direcionados aos locais de tratamento (TOMÉ *et al.*, 2005).

Para serem excelentes, os fotossensibilizadores devem apresentar propriedades hidrofílicas, além de propriedades hidrofóbicas já inerentes dos compostos tetrapirrólicos. Assim, é de interesse a inserção de porções moleculares que proporcionem solubilidade em água (como exemplo, grupos catiônicos e

carboidratos) facilitando desta forma a passagem pelas membranas biológicas, o que leva à farmacocinética melhorada (DRIAF *et al.*, 1996).

A aplicação da inativação fotodinâmica em fungos tornou-se promissora, uma vez que os tratamentos antifúngicos comuns são prolongados, caros e o aparecimento de cepas resistentes de medicamentos é muito frequente. Com isso, estes compostos representam uma alternativa interessante para inativar estes micro-organismos (CORNICK *et al.*, 2009).

Nos últimos anos muitos estudos têm mostrado que derivados tetrapirrólicos catiônicos são capazes de induzir a PDI tanto de bactérias gram (+) quanto gram (-) de maneira mais eficiente do que os derivados neutros (ALVES *et al.*; 2009). Estes derivados catiônicos também são capazes de interagir com o DNA, por forte atração eletrostática e intercalam-se entre os pares de bases do DNA, promovendo a clivagem do mesmo (JIA *et al.*, 2006).

Alguns estudos também vêm demonstrando que conjugados porfirinas-carboidratos, os derivados glicoporfirínicos, apresentam excelentes resultados como sensibilizadores eficientes para a PDT do câncer (CORNIA *et al.*, 1998; SOL *et al.*, 2006) e na fotoinativação de alguns vírus (TOMÉ *et al.*; 2005). Estes compostos exibem várias propriedades importantes devido à sua anfifilicidade e múltiplas funcionalidades. A propriedade mais importante até então comprovada é o incremento da solubilidade em ambientes aquosos conferida pela porção glicídica. Além disso, existem evidências que porções glicídicas podem ser responsáveis pelo endereçamento de glicoconjugados para que ocorra uma ação sítio-específica.

Já existe um número razoável de porfirinas sintéticas com porções catiônicas ou glicídicas descritas na literatura. Em relação às glicoporfirinas catiônicas, os exemplos tornam-se extremamente escassos, envolvendo apenas exemplos onde os grupos catiônicos não fazem parte da porção glicídica. Portanto, não há relatos na literatura descrevendo a obtenção de glicoporfirinas catiônicas nas quais a estrutura é baseada na presença de porções glicídicas cationizadas (glicoporfirinas que contenham grupos catiônicos fazendo parte da porção açúcar).

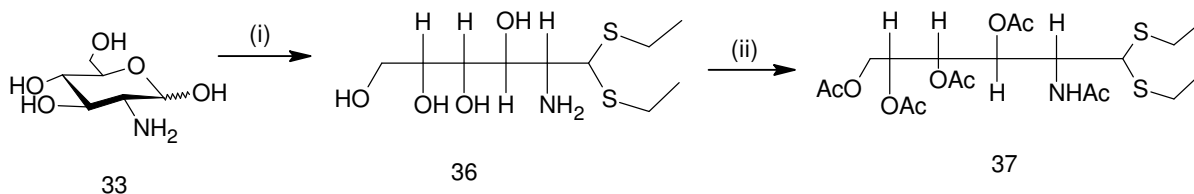
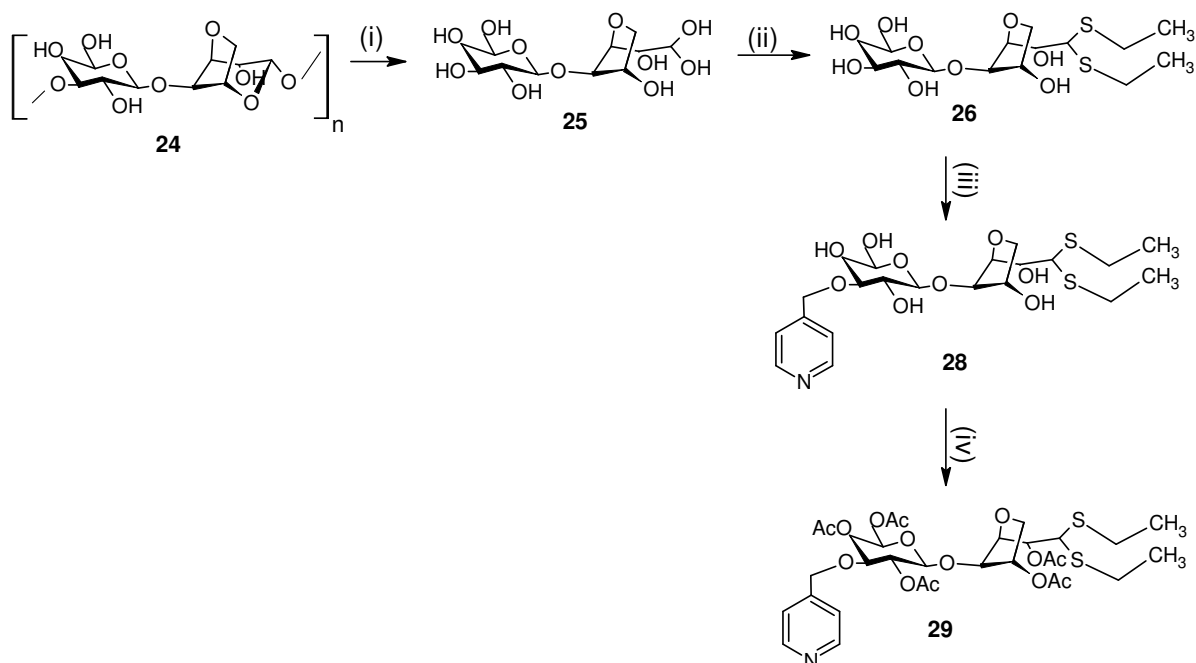
Assim, o presente trabalho dedica-se ao desenvolvimento de um processo sintético que proporcione a obtenção de glicoporfirinas com um grupo catiônico fazendo parte da porção glicídica. Este estudo futuramente auxiliará no entendimento das relações entre aspectos regioquímicos/estereoquímicos e a atividade biológica das glicoporfirinas catiônicas.

1.1 OBJETIVO GERAL

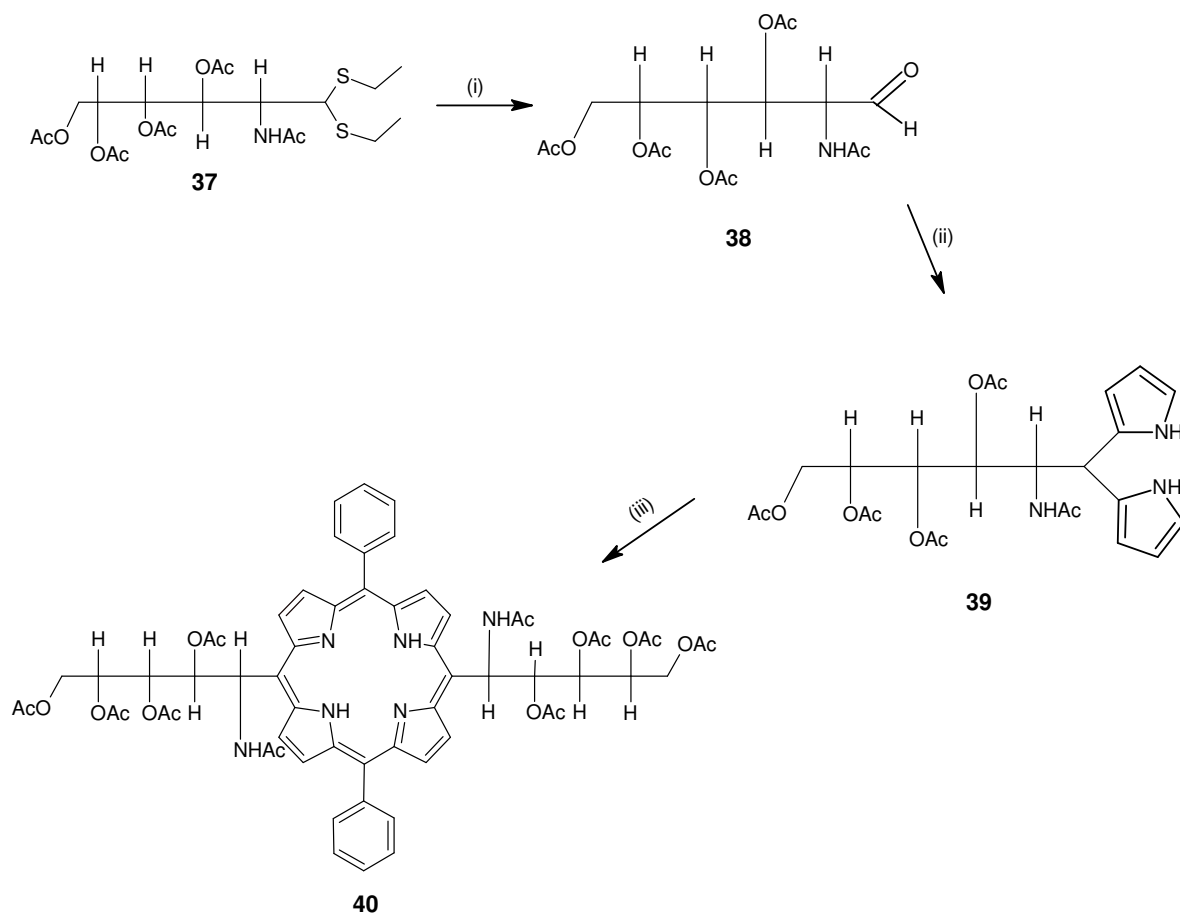
Desenvolver estratégias sintéticas para a obtenção de porfirinas contendo porções glicídicas catiônicas.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar e preparar materiais iniciais, derivados de carboidratos, com grupamentos que possibilitem geração de grupos catiônicos.

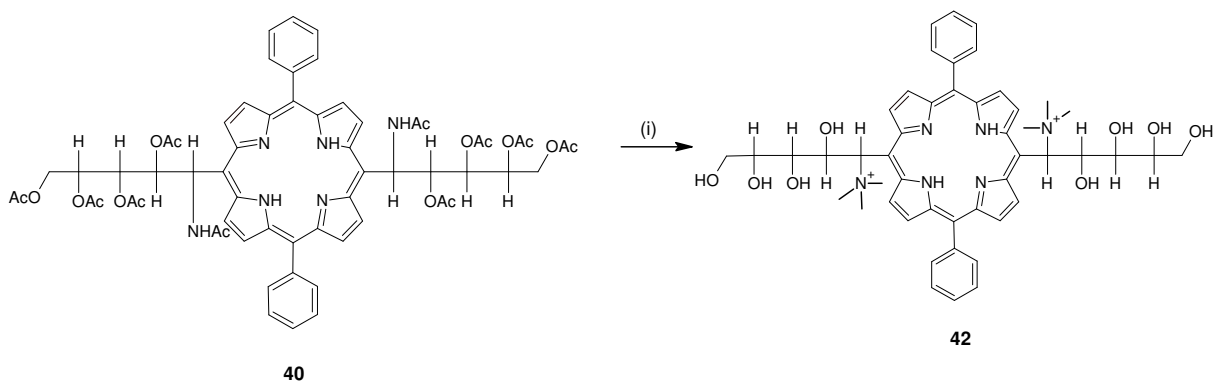


- Sintetizar o macrociclo porfirínico a partir dos materiais iniciais glicídicos previamente preparados.



Esquema 3: Plano de síntese para a obtenção da glicoporfirina **40**: i) H_5IO_6 , ii) pirrol, TFA; iii) $\text{BF}_3(\text{Et})_2\text{O}$, benzaldeído, SeO_2 .

- Desenvolver reações de cationização a partir dos derivados glicoporfirínicos obtidos.



Esquema 4: Plano de síntese para a obtenção da glicoporfirina catiônica **42**: i) HCl , CH_3I .

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PORFIRINAS

As porfirinas são pigmentos naturalmente encontrados nos organismos vivos. Estas moléculas e seus derivados têm papéis importantes na natureza e em processos biológicos. Os exemplos representativos de derivados de porfirinas são as proteínas heme (encontrados nas mioglobinas, nas hemoglobinas, nos citocromos, nas catalases e nas peroxidases), as clorinas e bacterioclorinas. Na natureza, as clorinas e bacterioclorinas estão presentes nos processos envolvidos com a fotossíntese (clorofilas e bacterioclorofilas) e as proteínas heme são utilizadas no transporte de oxigênio, transferência de elétrons e oxidações catalíticas. Nestes casos, estas substâncias são usualmente encontradas associadas com diferentes tipos de metais, sendo que os mais encontrados são ferro, magnésio, níquel e cobalto (JIAO, 2007).

Além destes derivados naturais, existem porfirinas sintéticas que apresentam aplicações importantes na terapêutica e na investigação médica (DEROSA; CRUTCHLEY, 2002).

2.1.1 Estrutura das porfirinas

Segundo Jiao (2007), em 1864 Stokes observou uma estrutura macrocíclica tetrapirrólica que, neste caso, tratava-se da clorofila. Porém, foi em 1867 que a primeira porfirina foi isolada em laboratório a partir da hemoglobina, por Thudichum. Em 1906, Willstatter e seus colaboradores obtiveram a clorofila pura e determinaram a presença de magnésio na estrutura da mesma, considerando-a um complexo organomagnésio; sem estar complexada com este metal foi denominada feofitina. Kuster, em 1912, sugeriu que a feofitina e a clorofila apresentavam estrutura macrocíclica similar com quatro anéis derivados do pirrol unidos por pontes metínicas, agora conhecida como macrociclo porfirínico. Outra pesquisa realizada em 1925 por Keulim mostrou a presença de ferro no grupo heme. No final de 1930, Willstatter e Fischer observaram a semelhança das clorofilas e do grupo heme, detectando algumas diferenças e relacionando-as com suas funções. A partir daí

muitos estudos foram realizados descobrindo-se mais e mais sobre estas estruturas, como por exemplo, sua presença na vitamina B12.

Com isso, estas moléculas tornaram-se atraentes para diversos cientistas de áreas diferentes, devido às suas interessantes propriedades físicas, químicas e espectroscópicas e também pela sua funcionalidade biológica (JIAO, 2007).

Existem vários sistemas de nomenclatura para o macrociclo porfirínico, sendo dois os mais importantes: o decorrente da escola de Fischer, que tem como base uma nomenclatura trivial, e o proposto pela IUPAC, que tem em vista maior uniformização dos nomes destes macrociclos (Figura 1). No sistema de Fisher, os carbonos externos dos anéis pirrólicos são numerados de 1 a 8, posições também designadas por β -pirrólicas. As pontes metínicas (posições interpirrólicas) são designadas pelas letras gregas α , β , γ , δ e são também designadas por posições *meso* (Figura 1A). Entretanto, o sistema de Fischer não identifica todos os carbonos do esqueleto da porfirina. A forma mais completa é dada pelo “Sistema da IUPAC”, o qual identifica todos os carbonos no anel macrocíclico. Os átomos são numerados, inclusive o nitrogênio, de 1 a 24, como indicado na Figura 1B. Os hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio encontram-se no N-21 e N-23, por convenção (SMITH, 1975; BONNET, 1978).

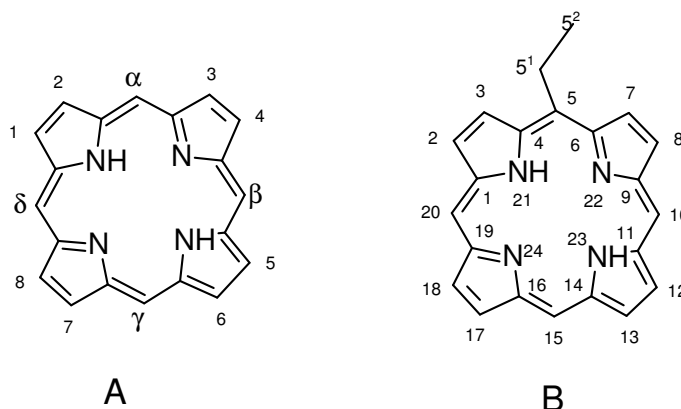


Figura 1: Numeração das posições para nomenclatura do macrociclo porfirínico segundo Fischer (A) e IUPAC (B) (HENRIQUES, 2011).

A nomenclatura de Fischer é também utilizada para denominar hidroporfirinas. Desta forma, uma porfirina reduzida nas posições 7 e 8 é designada por clorina (Figura 2A); quando reduzida nas posições 7, 8, 17 e 18 é a bacterioclorina (Figura 2C) e uma porfirina com as posições α , β , γ e δ reduzidas é denominada

porfirinogênio (Figura 2B). O outro tipo de macrociclo tetrapirrólico corresponde à ftalocianina (Figura 2D) (HENRIQUES, 2011).

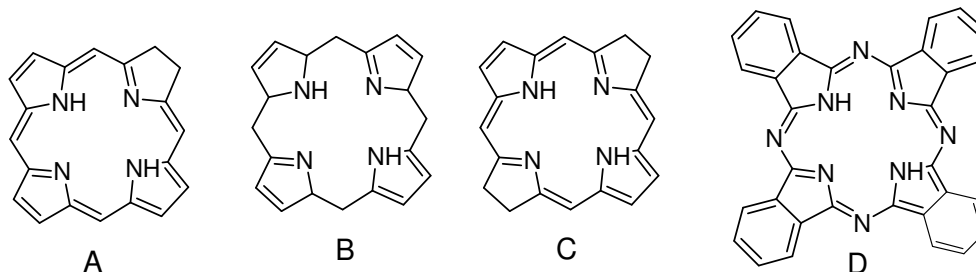


Figura 2: Nomenclatura de macrociclos tetrapirrólicos: (A) Clorina; (B) Porfirinogênio; (C) Bacterioclorina; (D) Ftalocianina (HENRIQUES, 2011).

Embora existam 22 elétrons π dentro do macrociclo porfirínico, somente 18 elétrons (com duplas ligações alternadas) estão envolvidos em aromaticidade. Este esquema encontra-se de acordo com a regra de aromaticidade de Hückel ($4n+2$ elétrons, onde $n=4$). Os quatro elétrons situados fora da via de deslocalização estão localizados nas duas duplas ligações opostas um ao outro no anel pirrólico. Estes elétrons tornam suas respectivas duplas ligações facilmente reduzíveis ou oxidáveis. Exemplos destas reações são: hidrogenação catalítica, redução com diimida e hidroboração. Os produtos de redução de porfirinas são normalmente clorinas ou bacterioclorinas. Como um típico sistema aromático, o núcleo porfirínico também é capaz de sofrer um número de reações de substituição eletrofílica aromática (SEA), tais como nitração, halogenação e formilação em qualquer posição *meso* e/ou β -pirrólicas não substituídas. No entanto, os carbonos quaternários α -pirrólicos raramente participam em quaisquer tipos de reações (JIAO, 2007).

Uma característica destas estruturas macrocíclicas é seu espectro na região do visível, o qual é caracterizado pela presença de uma banda característica, em cerca de 400 nm, denominada banda Soret, com um coeficiente de extinção molar elevado e ainda outras bandas satélites, de menor intensidade e em maiores comprimentos de onda, denominadas bandas Q. A banda Soret reflete a presença dos 18 elétrons π deslocalizados. O número e intensidade relativa das bandas Q podem estar relacionados, no caso de macrociclos não complexados, com os substituintes presentes nas posições *meso* e β -pirrólicas, ou, no caso de complexos, com a estabilidade do íon metálico central (SMITH, 1975; BONNET, 1978).

2.1.2 Síntese de porfirinas

A síntese de porfirinas pode ocorrer pela reação de uma molécula de pirrol com uma de aldeído, sendo as quatro posições *meso* referentes ao resíduo do aldeído, formando uma estrutura cíclica (ROTHERMUND, 1936).

Histórico:

Em 1935, Rothermund foi o primeiro a desenvolver a tetramerização monopirrólica na síntese de uma tetra-arilporfirina. A mesma foi formada, em alta temperatura, reagindo benzaldeído com pirrol e utilizando como solvente a piridina. Este procedimento levou à formação de α , β , γ e δ tetrafenilporfirina **1** (H_2TPP) (ROTHERMUND, 1936). Esta reação é chamada de “Reação de Rothermund”.

Ao mudar o solvente, de piridina para uma mistura de solventes-piridina/metanol à pressão atmosférica, tanto H_2TPP quanto clorina (di-hidro) são formadas. A clorina obtida foi conhecida como tetrafenilclorina (H_2TPC), que pode ser convertida para H_2TPP (**1**) por oxidação com oxigênio ou DDQ. Devido às condições drásticas da reação de Rothermund, poucos benzaldeídos podem ser utilizados (JIAO, 2007).

Em 1964, o método de Adler-Longo foi desenvolvido representando uma melhoria na síntese de H_2TPP (**1**), que foi alcançada pelo refluxo da mistura de pirrol e benzaldeído em ácido propiônico em meio aeróbico (Figura 3). Com isso obteve-se rendimento de 20%. Embora tenha ocorrido melhoria sobre o método de Rothermund, esta condição ainda apresenta algumas limitações (JIAO, 2007).

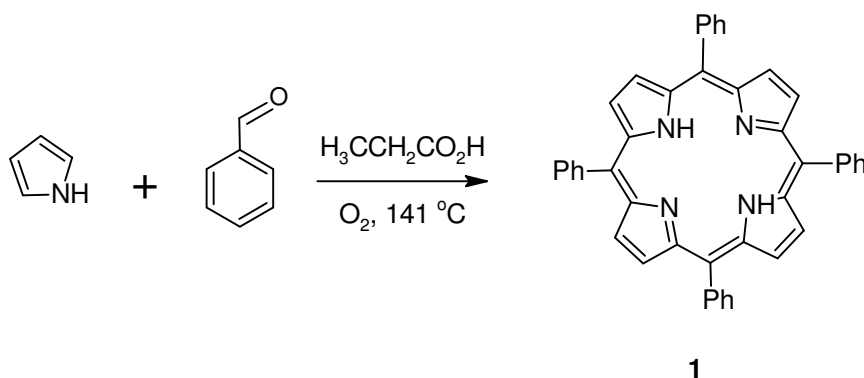


Figura 3: Síntese de H_2TPP usando o método de Adler-Longo (JIAO, 2007).

Os problemas encontrados na metodologia de Adler-Longo são: degradação dos aldeídos sensíveis devido às drásticas condições reacionais, além de produzir quantidade significativa de alcatrão, que dificulta a purificação em vários casos,

especialmente com aquelas porfirinas que não cristalizam ou precipitam no final da reação e ainda apresenta baixa reprodutibilidade (LINDSEY *et al.*, 1987).

Com isso, Lindsey e colaboradores, entre 1979 e 1986, desenvolveram uma metodologia de síntese complementar ao procedimento de Adler-Longo que se baseava no fato do intermediário, o *meso*-tetrafenilporfirinogênio, ser termodinamicamente favorável quando o pirrol e o benzaldeído são condensados nas condições apropriadas. Este tipo de síntese é realizado em duas etapas: inicialmente o pirrol e o aldeído são condensados numa solução de diclorometano seco na presença de um catalisador ácido (BF_3 , TFA ou BCl_3), a temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio e protegido da luz; na segunda fase o porfirinogênio formado é oxidado por adição de um agente oxidante (DDQ ou *p*-cloranil) originando a correspondente porfina (**1**), livre dos derivados reduzidos (Figura 4) (LINDSEY *et al.*, 1987).

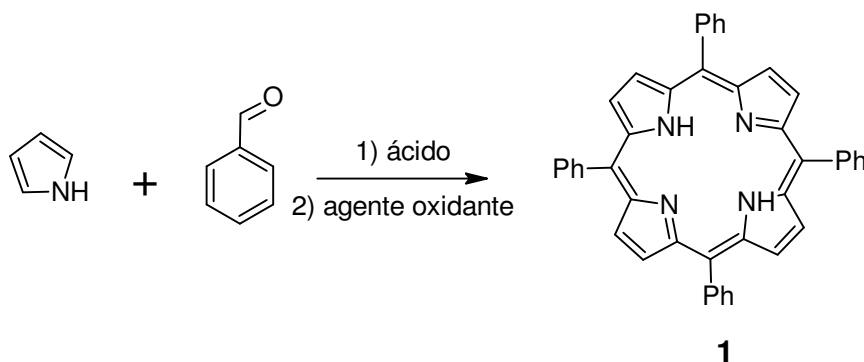


Figura 4: Síntese de H₂TPP usando o método de Lindsey (JIAO, 2007).

Estudos desenvolvidos por Gonsalves e colaboradores demonstraram que podem ser preparadas, num só passo, porfirinas *meso*-tetra-aril substituídas com bons rendimentos e sem estarem contaminadas com a respectiva clorina, por condensação do pirrol e do benzaldeído numa mistura de ácido acético ou ácido propiônico com 30% de nitrobenzeno a 120 °C, durante uma hora e em condições aeróbicas (GONSALVES; VAREJÃO; PEREIRA, 1991).

Recentemente, Ló e colaboradores aprimoraram as condições sintéticas de Lindsey através do uso de dióxido de selênio ao invés das quinonas de alto potencial oxidativo (DDQ ou *p*-cloranil) na segunda etapa da síntese de porfirinas. Neste caso, os rendimentos alcançados variaram de 18 a 56% (LÓ *et al.*, 2011).

2.1.3 Aplicações das porfirinas

As porfirinas e seus derivados têm aplicação em diversas áreas, tais como: catálise química (LEE; HUPP, 2006; SIMONNEAUX *et al.*, 2006), catálise enzimática (MURAKAMI *et al.*, 1996), sensores químicos (PURRELLO; GURRIERI; LAUCERI, 1999; LEE; HUPP, 2006), cristais líquidos (WANG; BRUCE, 1996; ARUNKUMAR; BHYRAPPA; VARGUESE, 2006), fungicidas (CARRÉ *et al.*, 1999; FRIEDBERG *et al.*, 2001; SMIJS *et al.*, 2004) e inseticidas (REBEIZ *et al.*, 1990).

As porfirinas são também utilizadas como transportadores artificiais de oxigênio (KOMATSU *et al.*, 2005), no diagnóstico de neoplasias (PAPAZOGLU, 1995; MIYOSHI *et al.*, 2004), na esterilização do sangue (TRANNOY *et al.*, 2004) e ainda na fotoinativação de bactérias (HAMBLIN *et al.*, 2002), fungos (CORNICK *et al.*, 2009) e vírus (ASANAKA *et al.*, 1989; VZOROV *et al.*, 2002; TOMÉ *et al.*, 2005).

Como citado anteriormente, as porfirinas são fotossensibilizadores eficientes para utilização em PDT. A eficiência proporcionada pelo núcleo porfirínico deve estar atrelada à sua baixa toxicidade no escuro, alta estabilidade química, alta afinidade por proteínas de soro, capacidade de formar complexos estáveis com grande variedade de íons metálicos e forte absorção na região visível do espectro óptico (JIAO, 2007).

2.2 TERAPIA FOTODINÂMICA

A PDT é um tratamento utilizado para erradicar células e tecidos indesejados usando uma combinação de um fotossensibilizador e luz de alta intensidade, tipicamente em regiões do espectro eletromagnético correspondentes ao vermelho ou próximo ao infravermelho. A PDT tem sido utilizada principalmente contra tumores sólidos, embora recentemente existam outras aplicações para a PDT, incluindo o tratamento de degeneração macular senil, infecções microbianas – bacterianas, fúngicas e virais - (HUDSON; SAYOIE; BOYLE, 2005), tratamento da psoríase, estenose vascular, artrite reumatóide, (WOJTYK *et al.*, 2006), acne (ITOH *et al.*, 2001; ASHKENAZI *et al.*, 2003), tratamento de efluentes (COSTA *et al.*, 2008).

A partir da década de 70, várias preparações de derivados porfirínicos começaram a ser testados como fotossensibilizadores para o uso na PDT. Embora

os fotossensibilizadores de primeira geração como os derivados hematoporfirínicos e suas variantes comerciais (Photofrin®, Photosan®, Photogem® e Photocarcinorin®) apresentem desvantagens, estes têm sido utilizados extensivamente em trabalhos experimentais clínicos. Esse é o caso do Photofrin®, o qual foi aprovado em muitos países (EUA, Canadá, França, Japão entre outros), utilizado para tratamentos de câncer de bazo, gástrico, cérvico-uterino, pulmões entre outros (YAMAMOTO *et al.*, 1999). As desvantagens apresentadas por esta classe de porfirinas é devido à sua baixa seletividade, sensibilização da pele por algumas semanas e uma fraca banda de absorção em 630 nm (comprimento de onda necessário para excitação do fotossensibilizador). Além disso, o Photofrin® é constituído por uma mistura complexa, não sendo possível isolar um único composto altamente ativo. Isto faz com que a síntese e atividade biológica sejam difíceis de serem reproduzidas (BONNET, 1995). Em vista disto, vários outros fotossensibilizadores têm sido investigados (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Estudos demonstraram que os fotossensibilizadores se acumulam preferencialmente nos tecidos não sadios, em razão da formação de complexos intravasculares entre as substâncias fotossensíveis e lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Devido à maior concentração de receptores desta lipoproteína nas células neoplásicas (em comparação com as normais), ocorre o acúmulo preferencial dos fotossensibilizadores sobre este tecido, de modo que a seletividade tumoral aumenta com o caráter lipofílico do agente fotossensibilizador (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Ao irradiar com uma fonte de luz o tecido tumoral o fotossensibilizador previamente administrado é ativado. Com isso, o mesmo passa a um estado eletrônico de maior energia, do qual retorna ao seu estado fundamental por um processo radiativo (emissão de fluorescência ou fosforescência), ou não radiativo (transição proibida por spin, onde o fotossensibilizador no estado eletrônico excitado singlete (S_1) sofre uma transição para o estado excitado triplete (T_1)). O fotossensibilizador no estado triplete excitado tem maior tempo de vida que o estado singlete excitado, em razão da transição $T_1 \rightarrow S_0$ ser proibida por spin. Dessa forma, o fotossensibilizador no estado T_1 pode interagir fotoquimicamente com moléculas de oxigênio, localizadas próximas à região irradiada, gerando espécies reativas que oxidam biomoléculas e danificam o tecido irradiado (Figura 5) (RIBEIRO *et al.*, 2007).

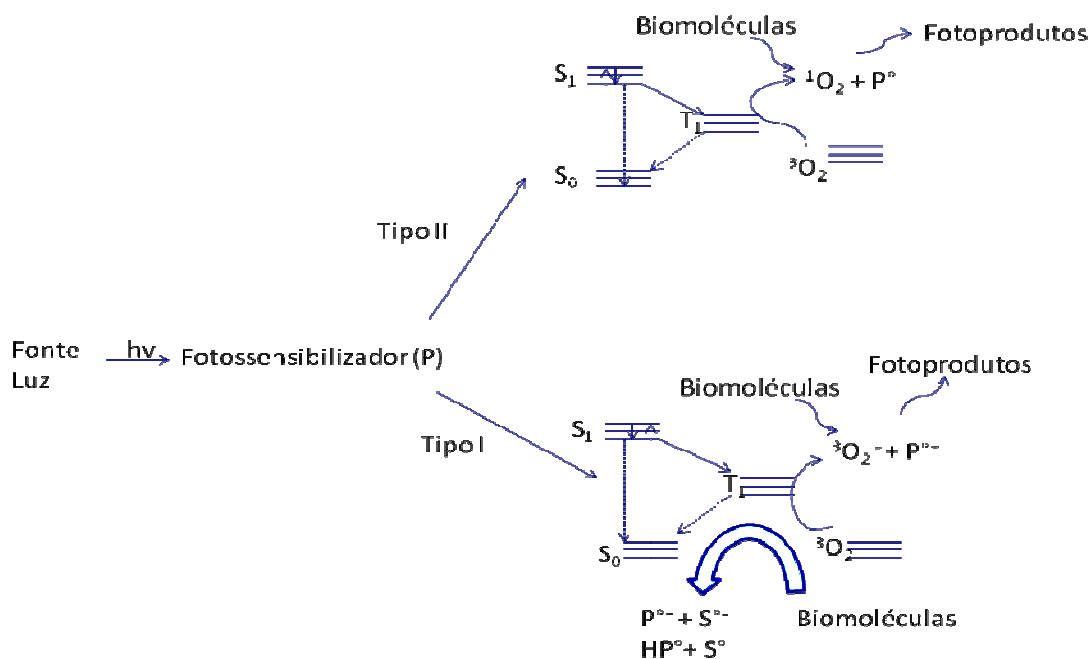


Figura 5: Mecanismos (Tipos I e II) de geração de espécies reativas de oxigênio pela combinação de luz, fotossensibilizador e oxigênio no estado fundamental (³O₂) (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Estas espécies reativas de oxigênio podem ser: radicais livres (mecanismo Tipo I) ou formação de oxigênio singlete (mecanismo Tipo II). Os radicais livres podem ser: peróxido de hidrogênio, radical superóxido e hidroxila, os quais são capazes de oxidar uma variedade de biomoléculas (RIBEIRO *et al.*, 2007). No mecanismo tipo II obtém-se o oxigênio singlete que é uma espécie altamente reativa e oxidante. Ele reage indiscriminadamente com uma série de biomoléculas que constituem as membranas de organelas celulares como, por exemplo, lipídios insaturados, colesterol e aminoácidos. Uma vez que as membranas celulares desempenham importantes funções biológicas, tais como delinear e organizar os sistemas biológicos, danos em suas estruturas podem levar à destruição do sistema vascular de um tumor ou à inativação de micro-organismos (BONNET, 1995).

Devido à importância da etapa de distribuição dos fotossensibilizadores para a realização do processo fotodinâmico, faz-se necessário a introdução de grupamentos químicos hidrofílicos na estrutura das porfirinas, uma vez que o núcleo tetrapirrólico originalmente apresenta característica hidrofóbica. O aumento da solubilidade em água para alcançar um balanço hidrofílico/hidrofóbico apropriado de um fotossensibilizador, além de auxiliar na sua biodistribuição também pode facilitar eventos de interação com uma membrana específica e influenciar no seu tempo de vida plasmático (CAVALEIRO; TOMÉ; FAUSTINO, 2007).

2.3 GLICOPORFIRINAS

Porfirinas ligadas a porções de carboidratos têm sido descritas como fotossensibilizadores eficientes na PDT. Isto se deve principalmente à afinidade específica de muitos carboidratos por células cancerígenas (TOMÉ *et al.*, 2005).

Essas porfirinas conjugadas com uma variedade de porções carboidratos têm sido recentemente sintetizadas e sua atividade biológica avaliada. São denominadas genericamente de glicoporfirinas e demonstraram eficácia como agentes antimicrobianos (CAVALEIRO; TOMÉ; FAUSTINO, 2007) e antivirais (TOMÉ *et al.*, 2005).

Uma das principais vantagens que uma glicoporfirina apresenta é a sua solubilidade em água, o que facilita a prática de aplicação da mesma na PDT e simultaneamente na sua rápida excreção após a terapia. Esta porção glicosídica pode interagir com lectinas de membrana celular, podendo também auxiliar na penetração da glicoporfirina nas células e organelas celulares por endocitose (AKSENOVA; SEBYAKIN; MIRONOV, 2003).

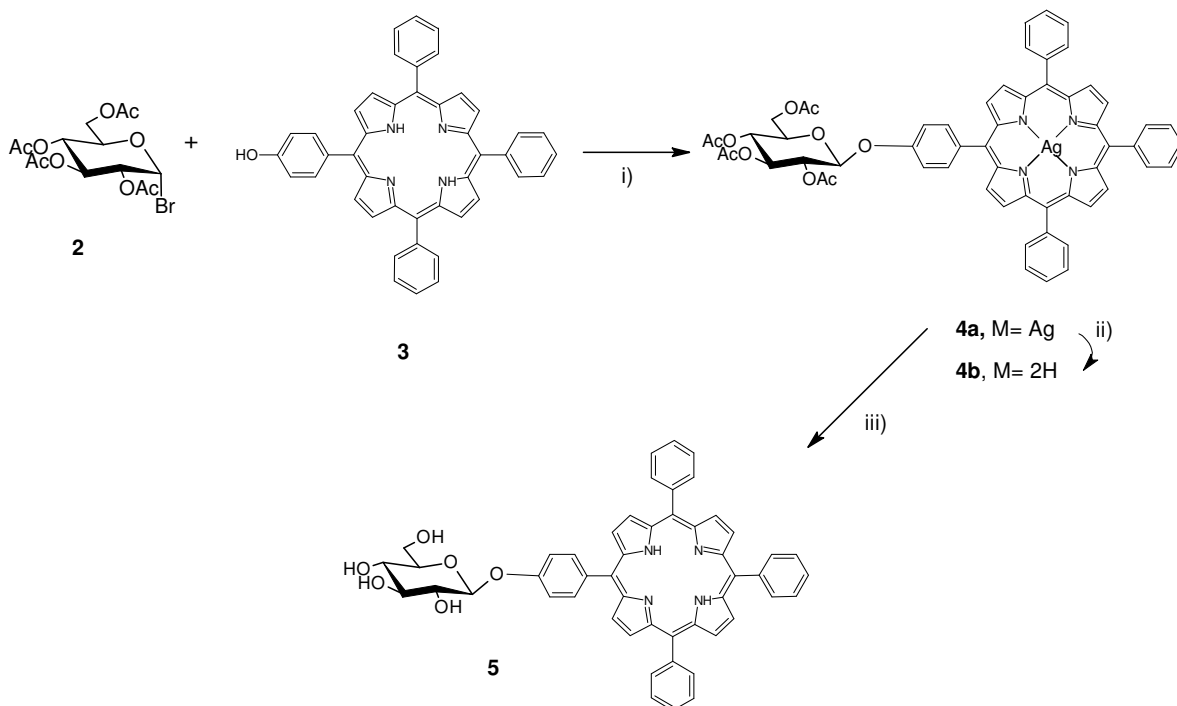
Muitos derivados glicoporfirínicos vêm sendo preparados através de ligações amida ou éster, éter ou tioéter e ligações amínicas entre a porfirina e a porção açúcar. Em todos os casos, os grupos hidroxila dos açúcares são protegidos durante a síntese por grupos adequados. Estes grupos protetores facilitam a purificação dos intermediários de síntese obtidos (CAVALEIRO; TOMÉ; FAUSTINO, 2007).

Há duas maneiras gerais para a obtenção de glicoporfirinas: a primeira delas é baseada na glicosilação direta das porfirinas, fazendo-se necessária a presença de grupos funcionais nucleofílicos (como por exemplo, grupo hidroxila). A segunda implica na condensação entre monopirróis utilizando glicosilaldeídos ou pirróis glicosilados (AKSENOVA; SEBYAKIN; MIRONOV, 2003).

2.3.1 Síntese de porfirinas O-glicoconjugadas

Nas porfirinas O-glicosídicas têm-se a ligação do núcleo porfirínico com a porção glicídica por meio de uma molécula de oxigênio. Uma das maneiras de obter este tipo de glicoporfirina é através da abordagem proposta por Tomé *et al.* (2005). Neste caso, prepara-se a 5-*p*-hidroxifenil-10,15,20-trifenilporfirina (**3**) a partir de 4-hidroxibenzaldeído, benzaldeído e pirrol em refluxo com ácido acético e

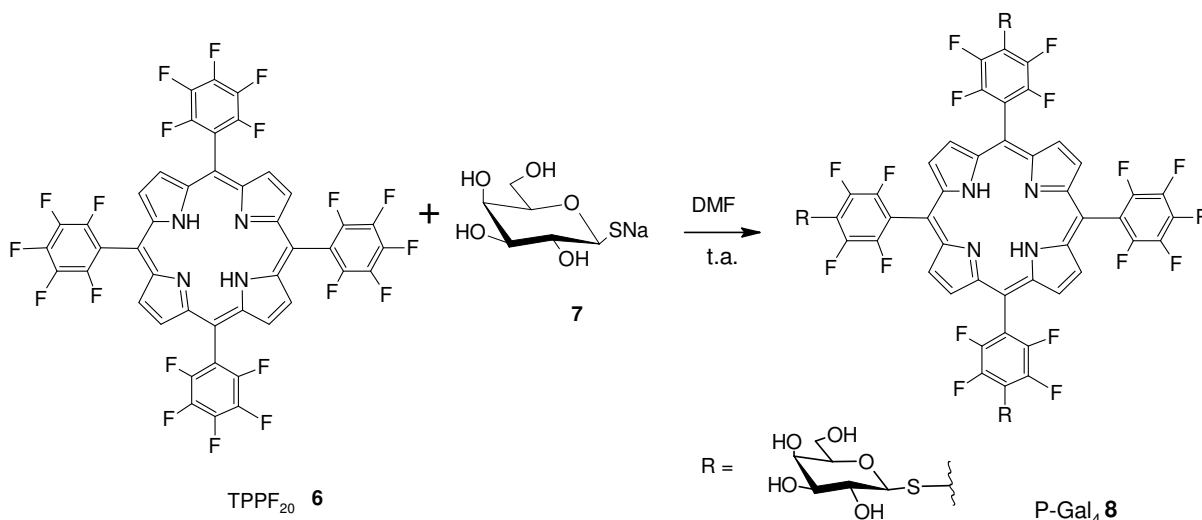
nitrobenzeno. Em seguida a glicoporfirina **4a** é obtida a partir da reação da porfirina (**3**) com 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-bromo- α -D-glucopirranose (**2**) na presença de carbonato de prata. Após a desmetalacão e desbloqueio das hidroxilas da porção glicídica, obteve-se o composto **5** (Esquema 5).



Esquema 5: Síntese da glicoporfirina **5**. i) Ag_2CO_3 ; ii) **4**, TFA, 10 min, t.a, CHCl_3 5min; iii) NaOMe (TOMÉ *et al.*, 2005).

2.3.2 Síntese de porfirinas S-glicoconjugadas

Um exemplo da ligação de uma porfirina com uma porção glicídica por meio de um átomo de enxofre é dado pela síntese da: 5,10,15,20-tetraquis(4-1'-tiogalactosil-2,3,5,6-tetrafluorofenil)porfirina (P-Gal₄) (**8**). Esta síntese foi realizada através da reação da 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (TPPF₂₀) (**6**) com 1-desoxi-tiogalactosídeo sódico (**7**) sob agitação (Esquema 6), a temperatura ambiente, em DMF, durante a noite (CHEN *et al.*, 2004).



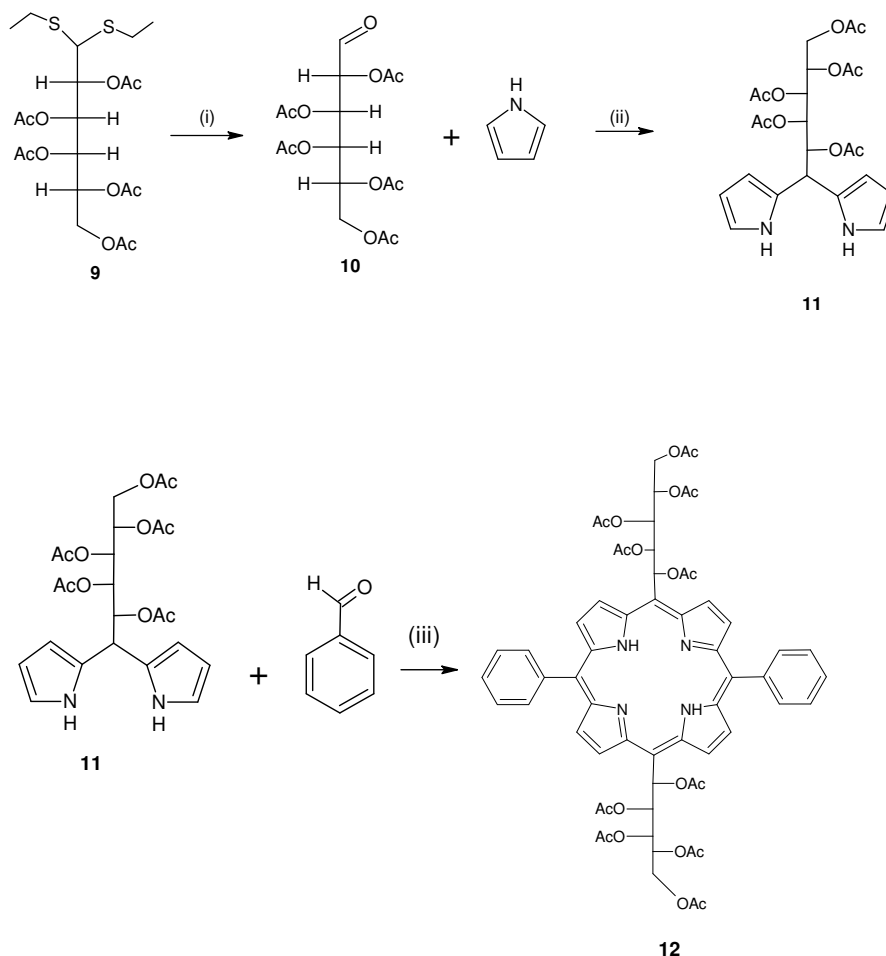
Esquema 6: Síntese da glicoporfirina **8** (CHEN *et al.*, 2004).

2.3.3 Síntese de porfirinas *meso*-C-1-desoxialditol- e *meso*-C-glico- substituídas a partir de precursores pirrólicos

De acordo com Casiraghi *et al.* (1994) e Ló (2011) a síntese de uma glicoporfirina onde as porções glicídica e porfirínica são unidas por meio de uma ligação carbono-carbono pode ser realizada de duas maneiras:

- (a) Através de reação de ciclocondensação-oxidação utilizando-se um C-glicosilaldeído e pirrol.
- (b) Através da reação de dipirrometanos C-glicosilados ou 1-C-desoxialditóis frente a um benzaldeído.

No ultimo caso (LÓ, 2011 – Esquema 7) o derivado dietilditioacetal (**9**) foi submetido à reação frente a ácido periódico em THF e éter etílico, sob agitação a 0°C, obtendo o aldeído (**10**). O composto **10** foi então condensado com pirrol a 50°C e um catalisador (TFA), sob agitação, sintetizando assim o dipirrometano **11**. Por sua vez, o dipirrometano **11** foi condensado com benzaldeído em diclorometano na presença de TFA. A reação foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente por 3 horas. Após este tempo adicionou-se o agente oxidante (dióxido de selênio) e agitou-se por mais 30 minutos. Com isto obteve-se a glicoporfirina **12**.



Esquema 7: Síntese da glicoporfirina **12**. i) H_5IO_6 , THF, Et_2O , t.a; ii) TFA, 50°C ; iii) composto **11**, benzaldeído, TFA, CH_2Cl_2 , SeO_2 . (LÓ, 2011).

2.4 PORFIRINAS CATIÔNICAS

Na última década, muitos estudos têm utilizado derivados tetrapirrólicos como fotossensibilizadores para a eficiente fotoinativação de bactérias gram (+) e gram (-). Tem sido bem documentado que porfirinas e ftalocianinas neutras são fotossensibilizadores eficientes na inativação de bactérias gram (+), porém o mesmo não ocorre com as gram (-). Entretanto, muito destes fotossensibilizadores podem tornar-se efetivos contra bactérias gram (-) se eles forem administrados com agentes de ruptura da membrana externa, como é o caso de cloreto de cálcio, EDTA ou polimixina B, os quais são capazes de promover repulsão eletrostática com desestabilização da estrutura da parede celular (ALVES *et al.*, 2009).

Tem-se investigado que porfirinas catiônicas são capazes de induzir a fotoinativação de bactérias gram (+) e gram (-) e algumas pesquisas ainda têm

comparado a eficiência de porfirinas sintéticas catiônicas *meso*-substituídas com diferente distribuição de cargas (tetra-, tri-, di- ou monocatiônica). Segundo ALVES *et al.* (2009) as porfirinas tetracatiônicas são eficientes fotossensibilizadores contra bactérias gram (+) e gram (-) na luz visível e que algumas porfirinas tri- e dicatiônicas foram mais eficientes do que algumas tetracatiônicas (ALVES *et al.* 2009).

Segundo estudos realizados por ALVES e colaboradores (2009), a carga positiva na molécula do fotossensibilizador promove uma ligeira interação eletrostática com os sítios negativamente carregados da superfície externa das células bacterianas, aumentando assim a eficiência no processo de fotoinativação. Já outros estudos demonstraram que o número de cargas não tem efeito na atividade do fotossensibilizador contra ambos os tipos de bactérias (MERCHAT *et al.*, 1996).

De fato, tem-se observado que as cargas positivas combinadas com grupos altamente lipofílicos podem aumentar o caráter anfifílico destes, aumentando sua afinidade por bactérias e, conseqüentemente, aumentando a atividade fotocitotóxica (ALVES *et al.*, 2009).

As porfirinas catiônicas também estão sendo utilizadas para PDI em fungos. Espécies como *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus* têm sido utilizados para avaliar o dano da destruição celular induzido por PDI em células eucarióticas. Em estudos recentes foi observado que *C. albicans* pode ser fotoinativada com sucesso utilizando porfirina catiônica, 5-fenil-10,15,20-tri-(*N*-metil-4-piridil)porfirina, na forma de cloreto (TriP [4]) (LAMBRECHTS; AALDERS; MARLE, 2005). Entretanto, a eficiência da PDI foi reduzida drasticamente quando a albumina estava presente no meio, pois a mesma se liga com a porfirina evitando a formação de espécies reativas de oxigênio (LAMBRECHTS *et al.*, 2005).

Fungos como *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton rubrum* e especialmente *Candida albicans* são habitantes comuns da boca, garganta, trato digestivo e da pele. Em hospedeiros com o sistema imune comprometido estes podem se tornar patogênicos. A candidíase orofaríngea é uma das infecções mais oportunistas que acompanham os pacientes portadores de SIDA. A resistência da *C. albicans* contra fluconazol, um agente antifúngico utilizado frequentemente por tais pacientes, começou a aparecer. Na última década, as porfirinas catiônicas, as ftalocianinas e as clorinas ganharam popularidade como fotossensibilizadores antimicrobianos devido

às suas habilidades de inativação de diversos micro-organismos. Com isso as porfirinas catiônicas vêm sendo aplicadas como agentes antimicrobianos de amplo espectro (LAMBRECHTS; AALDERS; MARLE, 2005).

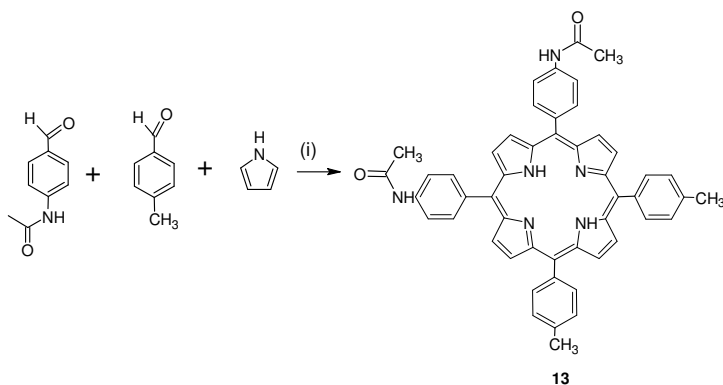
Outros estudos mostraram que moléculas relativamente grandes e com grupos lipofílicos e catiônicos podem atravessar a membrana celular e localizar-se ao redor das mitocôndrias das células mamárias, sendo ao mesmo tempo suficientemente solúveis em meio aquoso, o que permite sua introdução em meios biológicos. Esta localização celular ao redor das mitocôndrias pode ser especialmente benéfica, visto que esta organela tem sido recentemente implicada na indução do estágio tardio da apoptose durante a PDT. Clinicamente, apoptose neste caso, é um mecanismo desejável de morte celular, pois permite a substituição do tecido neoplásico por um novo tecido funcional (HUDSON; SAVOIE; BOYLE, 2005).

Sabe-se que a natureza dos grupos em torno do centro catiônico auxilia os fotossensibilizadores na absorção, retenção e podem ainda influenciar a distribuição intracelular para locais sensíveis, como a mitocôndria. O fator mais importante que afeta a atividade fotodinâmica parece ser a capacidade dos grupos em torno do centro catiônico de deslocalizar a sua carga catiônica, em estudos realizados *in vitro* em células de adenocarcinoma humano (HUDSON; SAVOIE; BOYLE, 2005).

Recentemente Gomes *et al.* (2011) relataram que porfirinas tetracatiônicas podem ser moléculas promissoras na PDI de conídios fúngicos (*Penicillium chrysogenum*) e que as cadeias laterais *N*-alquila nestas porfirinas influenciam na eficiência da PDI: as porfirinas com cadeias longas *N*-alquila foram menos eficientes que as de menor cadeia lateral.

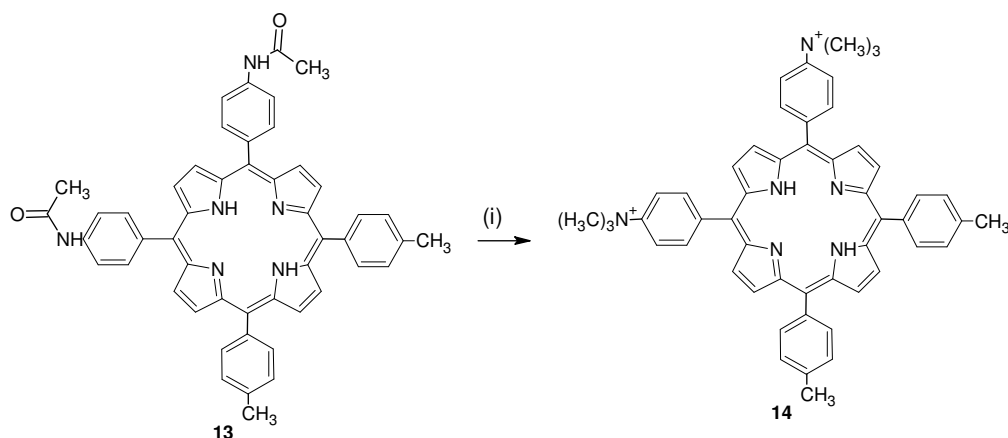
2.4.1 Síntese de porfirinas catiônicas

Segundo Lazzeri e Durantini (2003) a síntese de uma porfirina catiônica pode ser feita com uma solução de 4-metilbenzaldeído e 4-acetamido-benzaldeído em ácido propiônico, agitando a 90°C e adicionando lentamente pirrol, sendo a mistura deixada em refluxo por 40 minutos para fornecer a 5,10-bis(4-acetamidofenil)-15,20-bis(4-metilfenil)porifirina (**13**) (Esquema 8).



Esquema 8: Síntese da porfirina **13**: i) ácido propiônico, 90°C, 40 min; DDQ; CHCl₃, t.a., 3 h (Lazzeri e Durantini, 2003).

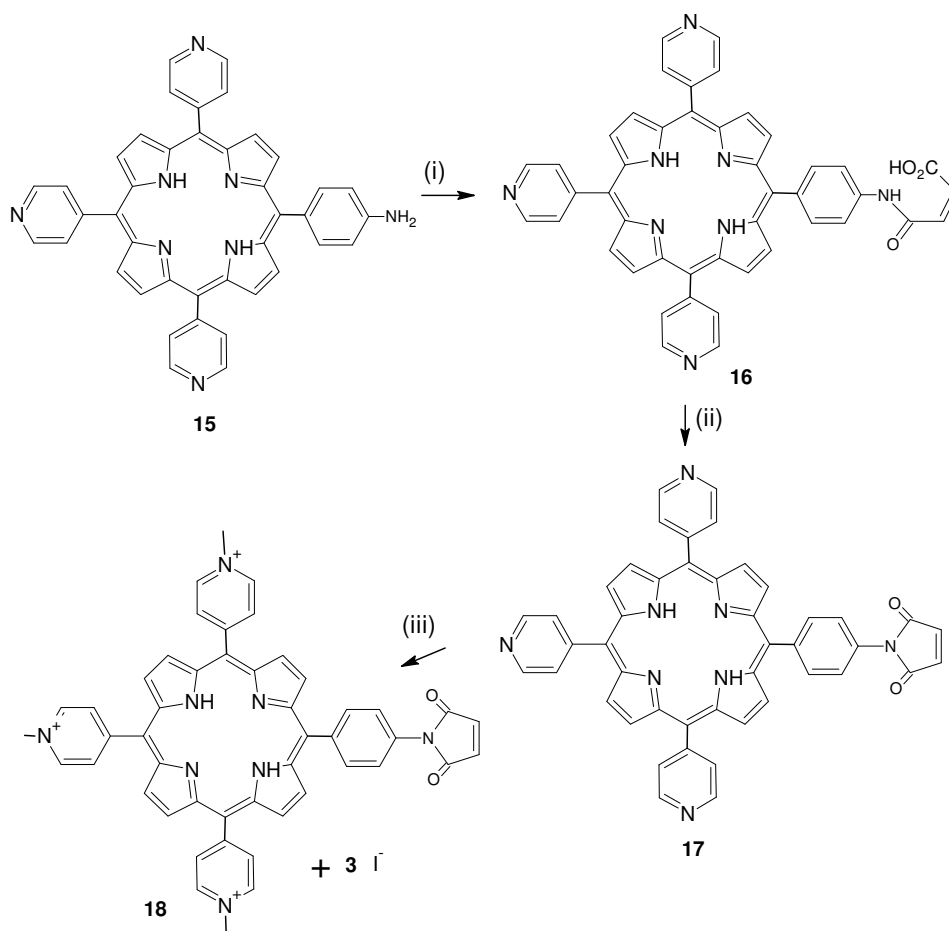
A porfirina **13** pode ser então submetida à reação com hidróxido de potássio aquoso em THF/metanol para fornecer o produto desacetilado, o qual pode ser subsequentemente quaternizado com iodeto de metila sob refluxo gerando a 5,10-bis(4-metilfenil),15,20-bis(4-trimetilamôniofenil)porfirina **14** (Esquema 9).



Esquema 9: Síntese da porfirina catiônica **14**. i) KOH; CH₃OH; THF, refluxo, 18 h. CH₃I, refluxo, 72 h (LAZERRI; DURANTINI, 2003).

Outro procedimento sintético para a obtenção de porfirinas catiônicas foi realizado partindo-se da 5-(4-aminofenil)-10,15,20-tri(4-piridil)porfirina **15** em presença de nitrobenzeno e anidrido maléico sob agitação a 100°C por 22 horas para fornecer ácido 4-[10,15,20-tri-(4-piridil)porfiril]*N*-fenil-maleâmico **16**. A porfirina **16** é misturada com anidrido acético e acetato de sódio a 80°C por 3,5 horas gerando a 5(4-maleimidofenil)—10,15,20-tri-(4-piridil)porfirina **17**. Como último passo, o composto **17** foi quaternizado com iodeto de metila em DMF, por 4 horas a

40°C, o que resultou na 5-(4-maleimidofenil)-10,15,20-tri(4-*N*-metil-piridil)porfirina **18** (Esquema 10) (ALONSO *et al.*, 2010).



Esquema 10: Síntese da porfirina catiônica **18**: (i) anidrido maléico, nitrobenzeno, 100°C, 22 h; (ii) acetato de sódio, anidrido acético, 80°C, 4 h; (iii) iodeto de metila, DMF, 40°C, 4 h (ALONSO *et al.*, 2010).

Outras porfirinas catiônicas vêm sendo sintetizadas baseando-se nos métodos de síntese de Lindsey e Adler-Longo e com as reações de cationização sendo sempre conduzidas utilizando-se haletos de alquila, tais como, iodeto de metila, iodopentano e bromododecadeno (GOMES *et al.*, 2011).

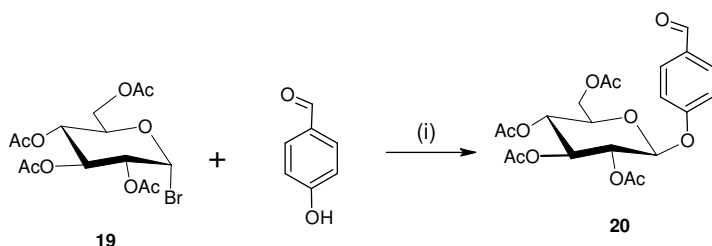
2.5 PORFIRINAS CATIÔNICAS GLICOSILADAS

Conforme já citado, estudos com uma série de porfirinas catiônicas e glicoporfirinas vêm demonstrando que estes dois tipos de porfirinas são eficientes fotossensibilizadores na PDT, não somente contra o câncer, mas também contra as bactérias, fungos e vírus (TOMÉ, 2007).

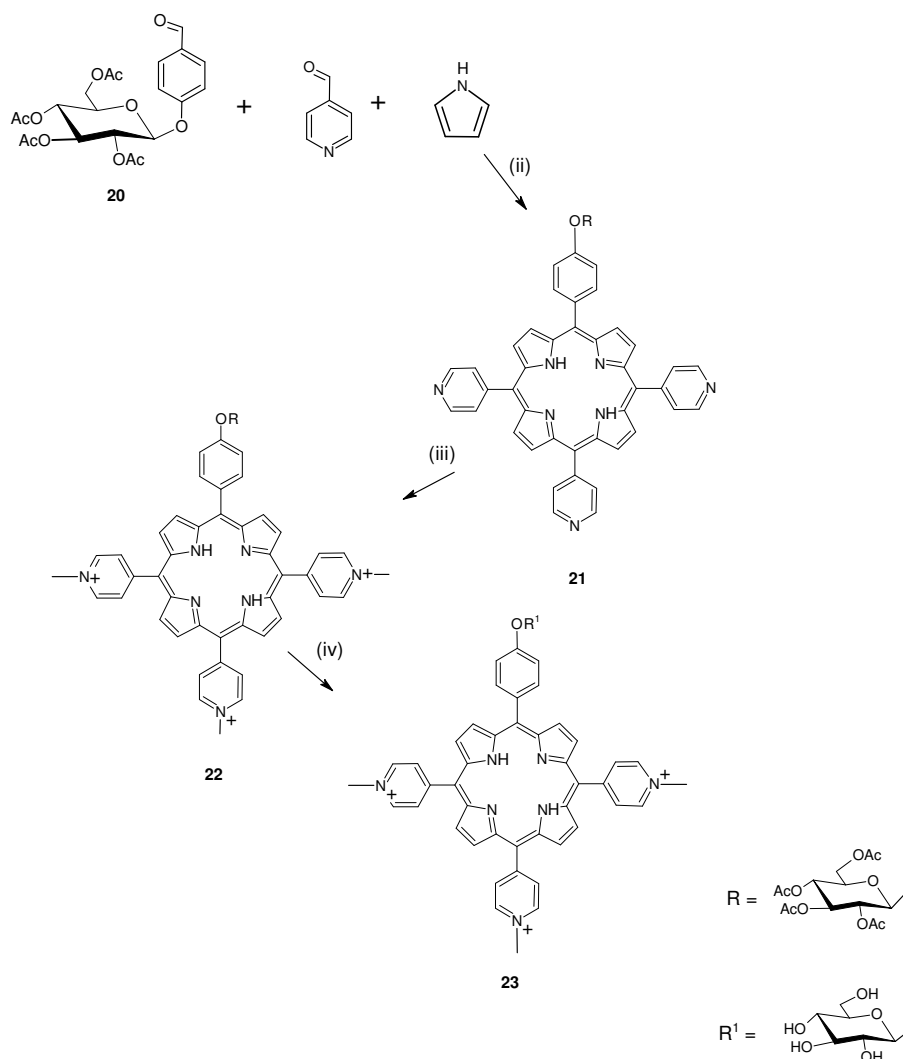
Nos últimos anos, uma série de porfirinas glicosiladas têm sido sintetizadas, porque estes glicoconjugados mostraram não somente possíveis interações com receptores específicos nas membranas, como também um reforço para solubilidade em água. Já as porfirinas catiônicas têm recebido um grande interesse por causa das suas propriedades de interação com o DNA. Estudos revelam que as células cancerígenas prendem-se a moléculas catiônicas e retêm-nas mais do que em células normais, reforçando assim a morte celular direcionada. Além disso, foi demonstrado que a farmacocinética e a biodistribuição de porfirinas utilizadas para PDT é dependente da natureza e distribuição dos substituintes em torno do núcleo macrociclo fotoativo. Com isso, tem-se estudado a síntese de porfirinas com porções glicosídicas e catiônicas proporcionando um agente em potencial para PDT. Em resumo a porção glicosídica possui a propriedade de melhorar a solubilidade em água, além de proporcionar o reconhecimento celular. Já a porção catiônica pode interagir com o DNA, promovendo a destruição celular (SOL *et al.*, 2006).

2.5.1 Síntese de uma glicoporfirina catiônica

Uma das porfirinas catiônicas glicosiladas já sintetizadas foi relatada por Driaf (1996), o qual utilizou brometo de 2,3,4,6 tetra-*O*-acetil- α -D-glupiranosila **19** e *p*-hidroxibenzaldeído em acetona e solução aquosa de hidróxido de sódio, gerando o composto **20** com rendimento de 40% (Esquema 11). O composto **20** foi submetido à reação com ácido propiônico e anidrido acético, sob refluxo com agitação vigorosa. Foram adicionados lentamente piridina-4-carbaldeído e pirrol recentemente destilado obtendo-se o composto **21** com 6% de rendimento. Subsequentemente, o composto **21** foi metilado com grande excesso de iodeto de metila em DMF para a obtenção do composto **22** (Esquema 12). O composto **22** foi desacetilado na presença de trietilamina:metanol:água (10:10:1) para fornecer a porfirina catiônica glicosilada (**23**) com 91% de rendimento (DRIAF, 1996).



Esquema 11: Síntese do intermediário **20**. i) Acetona, sol.aq. NaOH, t.a (DRIAF, 1996).



Esquema 12: Síntese da glicoporfirina catiônica **23**. ii) Ácido propiônico, Ac₂O; iii) DMF, MeI, 40°C; iv) Et₃N, MeOH, H₂O, t.a. (DRIAF, 1996).

Além da porfirina **23**, outras glicoporfirinas catiônicas já foram obtidas. Entretanto, ainda não foi descrita a síntese de uma glicoporfirina catiônica onde o grupo catiônico apresenta-se localizada na porção carboidrato. Este tipo específico de glicoporfirina catiônica seria de grande importância para a ampliação do entendimento das relações estrutura-atividade deste tipo de composto.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MÉTODOS GERAIS

3.1.1 Purificação dos produtos

Para purificação preparativa dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna de sílica sob pressão (*dry flash chromatography*) em sílica gel de grau CCD 60 (Merck). A quantidade de sílica e o tamanho da coluna foram selecionados de acordo com a relação descrita por Still, Kahn e Mitra (1978). O acompanhamento da purificação foi realizado por cromatografia em camada delgada analítica (CCD), de sílica gel em folhas de alumínio 60 F254 (Merck) usando misturas de solventes medidas em base de v/v (volume/volume). Após cromatografia, os carboidratos foram visualizados através de borrifamento com solução de orcinol 0,5% em etanol/H₂SO₄ conc. (20/1) e aquecidos até o aparecimento de coloração violeta. Para os compostos que apresentam coloração (derivados porfirínicos) não foi necessário revelador.

3.1.2 Caracterização estrutural dos produtos

3.1.2.1 Técnicas de ressonância magnética nuclear monodimensional

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos com o espectrômetro BRUKER Avance DRX 400 operando na frequência base de 400,13 MHz e 100,63 MHz para os núcleos de ¹H e ¹³C, respectivamente.

Os assinalamentos e as magnitudes das constantes de acoplamento foram obtidos a partir dos espectros de RMN ¹H através de análises de primeira ordem. A aparência dos sinais será indicada pelas abreviaturas b, s, d, t, q, p, e m para *broad*, simpleto, duplete, tripleto, quarteto, penteto e multipeto.

As amostras foram solubilizadas em solventes deuterados (D₂O, DMSO-D₆, CDCl₃ ou CD₃OD) e colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro para análise em temperaturas entre 30 °C e 60 °C.

Os deslocamentos químicos expressos em ppm foram determinados com base no sinal central dos solventes deuterados: CDCl_3 (7,27 ppm e 77,23 ppm para ^1H e ^{13}C , respectivamente), $\text{DMSO-}d_6$ (2,50 ppm e 39,50 ppm para ^1H e ^{13}C , respectivamente); CD_3OD (3,31 ppm e 49,1 ppm, para ^1H e ^{13}C , respectivamente).

3.1.2.2 Técnicas de ressonância magnética nuclear bidimensional

O COSY (*Correlation Spectroscopy*) é uma técnica homonuclear qual foi utilizada para correlacionar os deslocamentos químicos dos núcleos de ^1H vicinais acoplados. Assim, o H-1 de um monossacarídeo apresentará acoplamento com o H-2 da mesma unidade, sendo possível observar esta interação na forma de um pico cruzado (cross peak) entre os mesmos sinais, quantificar esta interação através da determinação da constante de acoplamento (J) e ainda determinar o deslocamento químico do H-2 a partir do H-1. Desta forma a partir do sinal de H-2, pode-se determinar o H-3 e assim sucessivamente ao longo do anel, salvo algumas particularidades apresentadas pelas diferentes unidades monossacarídicas.

O HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy*) é a técnica heteronuclear que permite determinar quais átomos de hidrogênio (^1H) estão ligados em quais átomos de carbono (^{13}C) a partir de sinais de ^{13}C conhecidos ou de ^1H já determinados por COSY.

3.1.2.3 Técnicas de espectrometria de massas

Ionização por *eletrospray* acoplada à espectrometria de massa (ESIMS) foi realizado no espectrômetro MICROMASS QUATTRO LC-MS/MS de triplo quadrupolo. A aquisição e processamento de dados foram feitos utilizando o programa MASLYNX 3.2.

Para realização das análises as amostras foram diluídas (100 $\mu\text{g/mL}$) em metanol/clorofórmio/água (3:2:1) e introduzidas no espectrômetro através de uma seringa acoplada à bomba (KD Scientific Inc.). Nitrogênio foi usado como gás de nebulização (83L/h) e desolvatação (309 L/h). A fonte foi operada a 150°C e a temperatura de desolvatação foi mantida a 250°C.

Para a determinação dos íons pais no modo positivo, os parâmetros foram: 5,0 kV (capilar) e 50 V (cone). Para o modo negativo, o capilar e o cone foram

ajustados a 4,0 kV e 100 V, respectivamente. Em ambos os modos, a pressão foi mantida a $1,1 \times 10^{-5}$ mBar para o analisador e $2,0 \times 10^{-5}$ mBar para a célula de gás.

Os íons filhos serão estudados através da dissociação induzida por colisão (CID – *collision induced dissociation*). Para esta análise, as voltagens do capilar e do cone foram ajustadas a 3.0 kV e 60 V respectivamente. Como gás de colisão, foi usado gás argônio 99,9% com energia de colisão de 20-50 eV. As pressões do analisador e célula de gás foram mantidas a $3,4 \times 10^{-5}$ e $9,7 \times 10^{-4}$ mBar respectivamente.

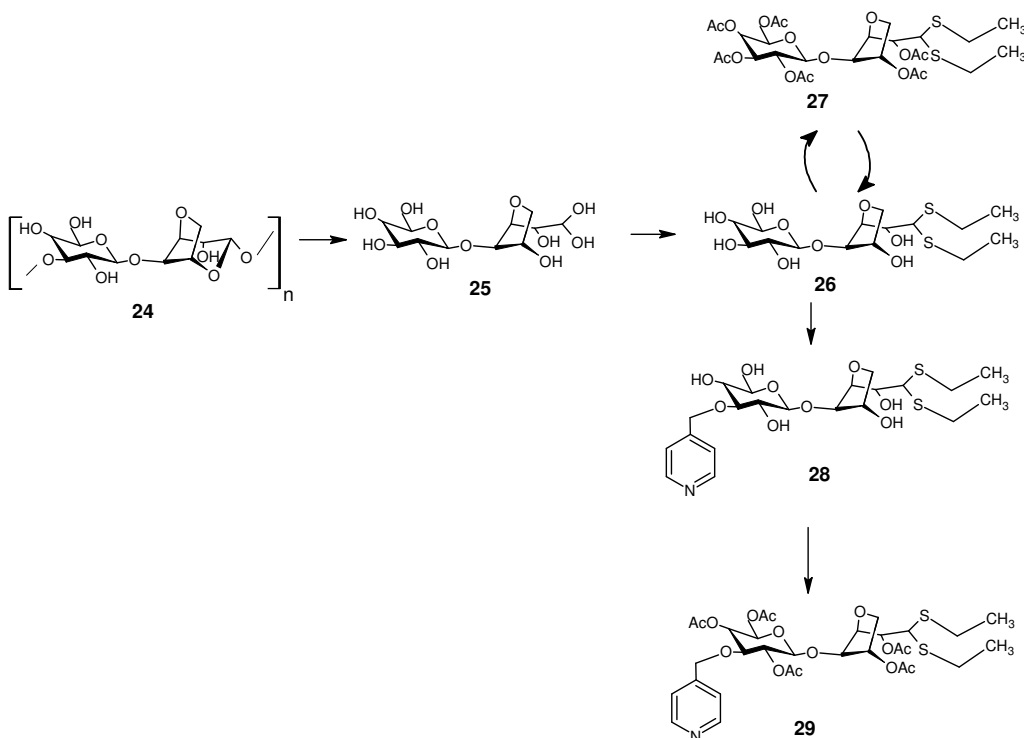
Para moléculas íon M/Z acima de 1000, foram obtidos os espectro de massa com Ionização por dessorção de matriz assistida por laser acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF/MS modelo Autoflex II, Bruker Daltonics). O programa de computador utilizado foi FlexControl 2.0 (Bruker Daltonics). Os espectros foram obtidos no modo refletor positivo, com uma voltagem de aceleração de 20 kV, intervalo de 150 ns entre o pulso de laser e aplicação da voltagem, e faixa de aquisição entre 300 – 2000 Da. A análise e tratamento dos espectros foram realizados utilizando-se o programa FlexAnalysis 2.0 (Bruker Daltonics). As amostras foram previamente adicionadas da matriz HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinamínico) para realização das análises.

3.1.3 Preparo de soluções

A solução de 4-(bromometil)piridina foi preparada da seguinte maneira: 4-(bromometil)piridina.HBr (3 g) foi dissolvido em água destilada (6 mL) a 0°C sob agitação. Sobre a solução resultante foi adicionado solução saturada de carbonato de sódio até pH 7,0. Em seguida a mistura foi extraída com diclorometano (15 mL), seco em sulfato de magnésio (previamente seco a 100°C) e filtrada em lã de vidro. Esta solução foi utilizada sem purificações adicionais.

3.2 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO A PARTIR DA AGAROSE

O Esquema 13 representa a rota sintética para a formação de um intermediário a ser utilizado na síntese de uma porfirimina com a porção glicídica quaternizada.



Esquema 13: Estratégia de síntese para a obtenção do composto **29**.

3.2.1 Obtenção da agarose

A agarose comercial (Vetec química, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), foi utilizada como material inicial para os processos s nticos realizados no presente trabalho.

3.2.2 Hidrólise parcial da agarose

Uma amostra de agarose **24** (5,0 g) foi dissolvida em água (450 mL) quente ($\sim 90^{\circ}\text{C}$). Em seguida foi adicionado TFA 1 mol/L (50 mL). A mistura resultante foi aquecida a 80°C em banho-maria por 3 horas, resfriada a temperatura ambiente, diluída com água (500 mL) e então concentrada. O resíduo resultante foi dissolvido em água (90 mL), diluído com álcool isopropílico (90 mL) e então filtrado em l  de

vidro. O solvente foi evaporado e o resíduo foi lavado com tolueno três vezes, sempre evaporando o tolueno em cada lavagem, para fornecer um material sólido **25** (4,94 g) (DUCATTI, 2009).

3.2.3 β -D-Galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal (**26**)

O composto **26** foi obtido de duas formas diferentes: a partir da agarobiose **25** (item a) e por desacetilação do composto **27** (item b).

- a) A agarobiose **25** (4,94 g; 14,42 mmol) foi dissolvida em ácido clorídrico 37% (7,4 mL, 90,4 mmol) e etanotiol (3,3 mL; 44,5 mmol.). A mistura resultante foi agitada a 0°C por 1 hora, originando o composto **26**, o qual não foi purificado.
- b) Sódio metálico (360 mg; 15,66 mmol) foi adicionado cuidadosamente em metanol (5 mL). Em seguida, esta solução foi lentamente adicionada ao composto **27** (500 mg, 0,73 mmol) diluída em metanol (5 mL). A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente por 45 minutos, neutralizada com resina catiônica e filtrada em lã de vidro. O filtrado teve seu solvente evaporado e o resíduo foi purificado em coluna de sílica gel (*eluente: acetato de eila:metanol:água 14:2:1*), obtendo-se o composto **26** (461,5 mg, 84% de rendimento). RMN ^1H (CD_3OD): δ = 4,39 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 7,44$ Hz, H-1'), 4,32 (b, 1 H, H-3), 4,28-4,24 (m, 2 H, H-4, H-5), 3,99 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,35$ Hz, H-1), 3,92 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4,35$ Hz, $J_{6a,6b} = 9,5$ Hz, H-6a), 3,84-3,80 (m, 2 H, H-2, H-4'), 3,79-3,69 (m, 3 H, H-6b, H-6a', H-6b'), 3,54-3,48 (m, 2H, H-5', H-2'), 3,45 (dd, 1 H, H-3'), 2,78-2,60 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 1,25, 1,24 (2 t, 6 H, $J = 7,5$ Hz, SCH_2CH_3) (DUCATTI, 2009).

3.2.4 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-O-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal **27**

A mistura reacional, contendo o composto **26** (item 3.2.3 a, p. 44), foi adicionada lentamente piridina (147 mL) e posteriormente anidrido acético (124 mL), sob agitação a 0°C durante 1 hora. Passado este tempo, a reação foi mantida por

mais 18 horas em temperatura ambiente. Adicionou-se cerca de 200 g de gelo. A mistura resultante foi extraída com clorofórmio (2 x 50 mL). Os extratos foram reunidos e lavados com sulfato de cobre 5% (25 mL até a fase aquosa ficar da mesma tonalidade da solução original de sulfato de cobre 5%). Após a lavagem, os extratos foram reunidos seguindo-se de filtração em lã de vidro, na presença de com sulfato de sódio anidro. Sendo o solvente evaporado e o resíduo submetido à cristalização com metanol e água para a obtenção do produto **27** (4,08 g, 39% de rendimento, a partir da agarobiose **25**). RMN ^1H (CDCl_3): δ = 5,38-5,35 (b, 2H, H-4', H-2), 5,19 (dd, 1H, H-2'), 5,05 (d, 1H, H-3), 5,00 (m, 1H, H-5), 4,61 (d, 1H, J = 7,95 Hz, H-1'), 4,48 (dd, 1H, H-3), 4,22 (dd, 1H, $J_{5',6b'} = 7,18$ Hz, $J_{6a',6b'} = 11,1$ Hz, H-6b'), 4,13 (dd, 1H, $J_{5',6a'} = 6,09$ Hz, H-6a'), 4,07 (d, 1 H, J = 9,22 Hz, H-1), 4,01-3,93 (m, 4 H, H-5', H-6b, H-6a, H-4), 2,78-2,59 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 2,16-1,97 (m, 18 H, COCH_3), 1,30-1,22 (m, 6 H, SCH_2CH_3) (DUCATTI, 2009).

3.2.5 3-*O*-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal **28**

Esta etapa foi conduzida através da adição de óxido de dibutilestanho (123 mg; 0,49 mmol; 1,1 eq) em uma solução do composto **26** (164 mg; 0,38 mmol) em metanol seco (5 mL), sob refluxo a 80°C por 3 horas. Passado este tempo adicionou-se a mistura tolueno seco (10 mL, 1h adicional de refluxo) a fim de retirar todo o metanol e água que se formou durante a reação. Evaporou-se o tolueno, sendo adicionado DMF seco (5 mL) em seguida, fluoreto de cézio (145 mg; 0,95 mmol; 2,5 eq) e uma solução de 4-(bromometil)piridina (3,0 eq, p.38) preparada recentemente. Esta mistura foi deixada a temperatura ambiente por aproximadamente 18 horas. O produto **28** (98 mg; 49% de rendimento) foi purificado em coluna de sílica gel (*eluente: clorofórmio:hidróxido de amônio:metanol 28:1:6*). ESIMS: m/z 522,6 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

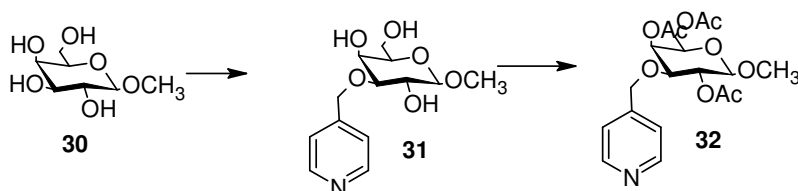
3.2.6 2,4,6-Tri-*O*-acetil-3-*O*-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-*O*-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal **29**

Ao produto **28** (691 mg; 1,32 mmol), dissolvido em DMF, foi adicionado lentamente anidrido acético (2,5 mL), deixando em agitação a temperatura ambiente.

A purificação foi realizada por meio de coluna de sílica gel (*eluente*: *clorofórmio:metanol* 7:1), após 24 horas de reação, para formação do composto **29** (2,6 mg; > 1% de rendimento). ESIMS: m/z 754,6 $[M+Na]^+$.

3.3 ESTUDO DA REAÇÃO DE ALQUILAÇÃO REGIOSELETIVA DO β -D-GALACTOPIRANOSÍDEO DE METILA COM O AGENTE ALQUILANTE 4-(BROMOMETIL)PIRIDINA

A fim de obter uma melhor condição sintética para a preparação dos intermediários **28** e **29**, a mesma foi estudada utilizando-se um carboidrato mais simples, o β -D-galactopiranosídeo de metila, como mostra o Esquema 14:



Esquema 14: Síntese do composto **32**.

3.3.2 3-O-(piridin-4il-metil)- β -D-galactopiranosídeo de metila **31**

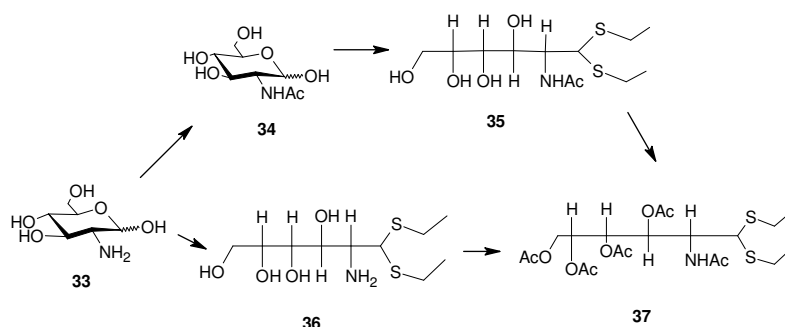
Esta etapa foi conduzida através da adição de óxido de dibutilestanho (336 mg; 1,35 mmol; 1,1 eq) em uma solução do composto **30** (β -D-galactopiranosídeo de metila, 215 mg; 1,10 mmol) em metanol seco (5 mL), sob refluxo a 80°C por 3 horas. Passado este tempo adicionou-se à mistura tolueno seco (10 mL, 1 h adicional de refluxo) a fim de retirar todo o metanol e água que se formou durante a reação. Evaporou-se o tolueno, sendo adicionado DMF seco (5 mL), em seguida fluoreto de cério (510 mg; 2,5 eq) e uma solução de 4-(bromometil)piridina (3,0 eq, p. 38) preparada recentemente. Esta mistura foi deixada a temperatura ambiente por aproximadamente 18 horas. O produto **31** foi purificado em coluna de sílica gel (*eluente*: *clorofórmio:hidróxido de amônio:metanol* 49:1:6) (170 mg, 54% de rendimento). ESIMS: m/z 286,6 $[M+H]^+$.

3.3.3 2,4,6-Tri-*O*-acetil-3-*O*-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosídeo de metila **32**

Foi dissolvido o composto **31** (5,0 mg; 0,017 mmol) em diclorometano, em seguida adicionou-se lentamente anidrido acético (0,015 mL; 20 eq), sendo o meio reacional mantido sob agitação a temperatura ambiente. A purificação foi realizada por meio de coluna de sílica gel (*eluente*: *clorofórmio:metanol* 7:1), após 48 horas de reação, para a formação do composto **32** (6,3 mg, 87% de rendimento). ESIMS: m/z 412,5 $[M+H]^+$.

3.4 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO A PARTIR DA GLUCOSAMINA

A estratégia para obtenção do intermediário **37** está representada no Esquema 15.



Esquema 15: Estratégia de síntese do intermediário **37**.

3.4.2 Obtenção da glucosamina

O cloridrato de glucosamina comercial **33** (Sigma) foi utilizado como material inicial para os processos sintéticos realizados no presente trabalho.

3.4.3 2-Acetamido-2-desoxi-D-glucose **34**

Esta etapa foi conduzida dissolvendo-se uma amostra de glucosamina **33**. HCl (5,0 g; 28 mmol) em metanol (50 mL), mantendo a mesma a 40°C sob agitação. Uma solução de metóxido de sódio (32 g sódio metálico; 0,60 mol) foi preparada e adicionada lentamente sobre esta mistura. Após 30 minutos, adicionou-se lentamente anidrido acético (78 mL; 0,83 mol) sendo então a reação mantida por mais 22 horas. A mistura resultante foi colocada em banho de gelo, onde cristais

foram obtidos. Os mesmos foram filtrados e lavados até pH neutro e reservados. O filtrado teve o solvente evaporado e depois de dissolvido em metanol gelado, proporcionando uma segunda coleta de cristais, os quais foram filtrados e lavados com metanol gelado. Os cristais foram agrupados e caracterizados como o composto **34** (3,4 g, 55% de rendimento) (YAMAGUCHI *et al.*, 2010). ESIMS: m/z 244,2 $[M+Na]^+$.

3.4.4 2-Acetamido-2-desoxi-D- glucose dietilditioacetal **35**

O composto 2-acetamido-2-desoxi-D-glucose **34** (3,0 g; 14 mmol) foi dissolvido em ácido clorídrico concentrado (12 mL), sob agitação a 0°C. Adicionou-se então etanotiol (12 mL) e a mistura reacional foi mantida sob agitação por 24 horas. Passado este tempo, o etanotiol foi evaporado sob fluxo de nitrogênio e a mistura reacional foi neutralizada com resina aniônica (CO_3^{-2}), filtrada e a resina foi lavada com metanol. Do filtrado evaporou o solvente e o resíduo foi lavado com metanol (3 X 50 mL), posteriormente foi purificado em coluna de sílica gel (*eluente*: *acetato de etila:metanol 8:1*) e cristalizado com etanol, clorofórmio e éter etílico, para fornecer um material sólido **35** (390 mg, 9% de rendimento). RMN 1H (CD_3OD): δ = 4,52 (s, 1H, NH), 4,38 (t, 1H, H-3), 4,29 (dd, 1H, H-2), 4,12 (d, 1H, $J_{2,1}$ = 7,53 Hz, H-1), 3,76 (b, 1H, H-6a), 3,66-3,63 (b, 1H, H-6b), 3,63-3,60 (b, 1H, H-5), 3,50 (dd, 1H, H-4), 2,77-2,62 (m, 4H, SCH_2CH_3), 2,00 (s, 3H, $NCOCH_3$), 1,27-1,22 (m, 6H, SCH_2CH_3). RMN ^{13}C (CD_3OD): δ = 74,2 (C-4), 73,5 (C-5), 70,3 (C-3), 64,7 (C-6), 56,1 (C-2), 54,9 (C-1), 26,1 (SCH_2CH_3), 22,9 ($NCOCH_3$), 14,8 (SCH_2CH_3). ESIMS: m/z 350,3 $[M+Na]^+$.

3.4.5 2-Amino-2-desoxi-D-glucose dietilditioacetal **36**

Uma amostra de glucosamina. HCl **33** (5,0 g; 28 mmol) foi dissolvida lentamente em ácido clorídrico concentrado (45 mL) a 0°C, sob agitação. Em seguida foi adicionado lentamente etanotiol (20 mL). A mistura resultante foi mantida por mais 10 minutos a 0°C e então a temperatura ambiente por 48 horas. Passado este tempo o meio reacional foi neutralizado com resina aniônica (CO_3^{-2}), filtrado para a remoção da resina, a qual foi lavada exaustivamente com etanol. O filtrado e as porções etanólicas obtidas no processo de lavagem foram combinados seguindo-

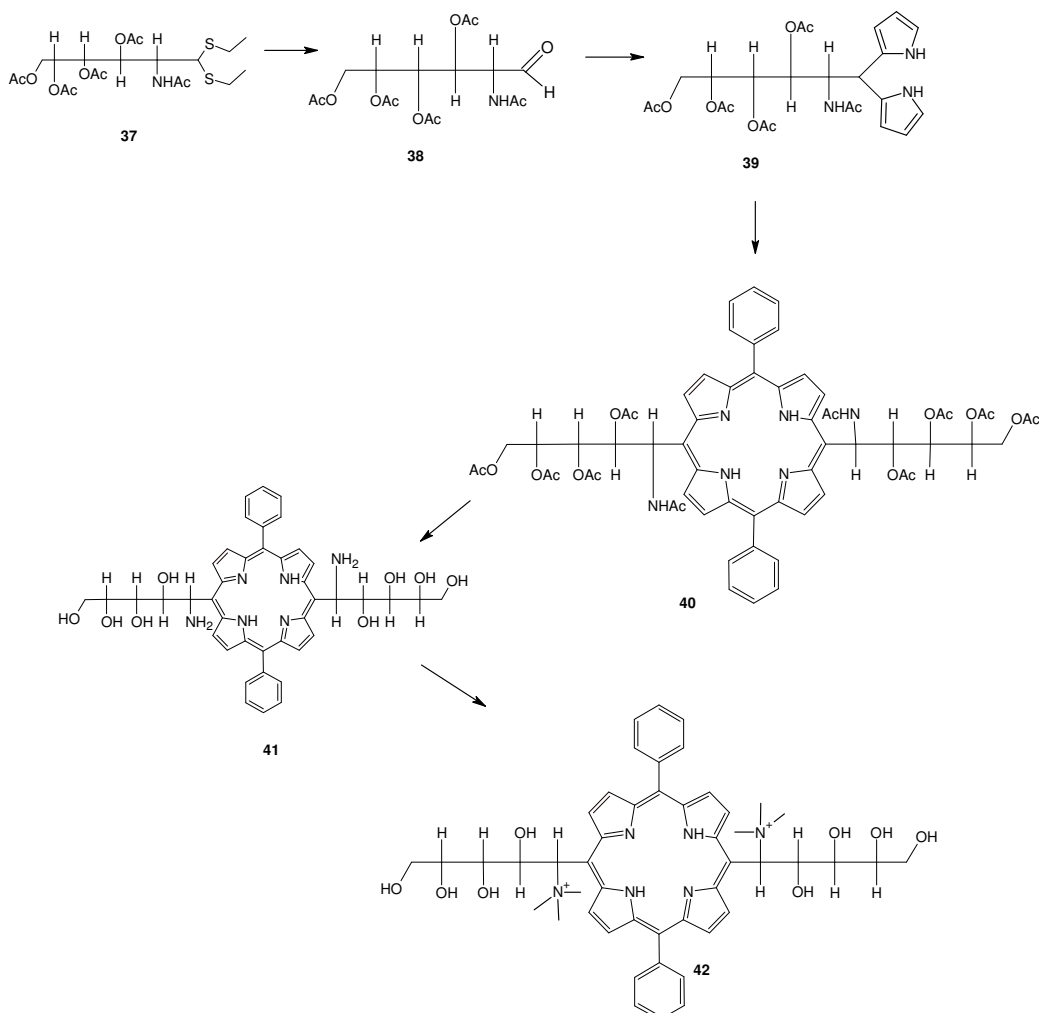
se de evaporação do solvente à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado em coluna de sílica gel (*eluente*: *clorofórmio:2-propanol:hidróxido de amônio 8:6:1*). O produto foi cristalizado com etanol e éter, para fornecer um material sólido **36** (4,7 g, 95% de rendimento). RMN ^1H (CD_3OD): δ = 4,34 (dd, 1H, H-3), 3,98 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7,32 Hz, H-1), 3,77 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ = 3,41 Hz, $J_{6a,6b}$ = 10,95 Hz, H-6a), 3,68 (m, 1H, H-5), 3,62 (b, 1H, H-6b), 3,59 (b, 1H, H-4), 3,31 (b, 2H, NH_2), 3,02 (dd, 1H, H-2), 2,69 (m, 4H, SCH_2CH_3), 1,27 (m, 6H, SCH_2CH_3). RMN ^{13}C (CD_3OD): δ = 75,6 (C-4), 73,0 (C-5), 69,7 (C-3), 64,9 (C-6), 58,8 (C-2), 57,6 (C-1), 25,6 (SCH_2CH_3), 26,3 (SCH_2CH_3), 14,9 (SCH_2CH_3). ESIMS: m/z 286,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 308,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.4.6 3,4,5,6-Tetra-*O*-acetil-2-acetamido-2-desoxi-D-glucose dietilditioacetal **37**

O composto **37** foi sintetizado a partir dos compostos **35** (1,1 g; 3,19 mmol) e **36** (632 mg; 2,21 mmol). Em ambos os casos, foi realizada a solubilização do material inicial em piridina e adicionando excesso de anidrido acético. Esta reação foi mantida sob agitação a 0°C por 1 hora, seguindo-se de temperatura ambiente por mais 23 horas. Após este tempo foi adicionado gelo moído e o composto **37** foi extraído com clorofórmio (3 X 100 mL). Os extratos orgânicos foram agrupados e lavados com sulfato de cobre 5% (50 mL até a fase aquosa ficar da mesma tonalidade da solução original de sulfato de cobre 5%), secados com sulfato de sódio anidro e filtrados em lã de vidro na presença de sulfato de sódio. Do filtrado foi evaporado o solvente e o resíduo purificado em coluna de sílica gel (*eluente*: *acetato de etila:ciclo-hexano 1:1*). (1,1 g; 98% de rendimento a partir do composto **36** e 1,2 g; 76% a partir do composto **35**). RMN ^1H (CDCl_3): δ = 5,71 (d, 1H, J = 9,84 Hz, NH), 5,54 (dd, 1H, H-3), 5,32 (dd, 1H, H-4), 5,10-5,05 (m, 1H, H-5), 4,53-4,46 (m, 1H, H-2), 4,23 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ = 3,05 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,44 Hz, H-6a), 4,08 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ = 5,44 Hz, H-6b), 3,99 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 4,43 Hz, H-1), 2,77-2,46 (m, 4H, SCH_2CH_3), 2,06 (m, 12H, COCH_3), 1,95 (s, 3H, NCOCH_3), 1,13-1,14 (m, 6H, SCH_2CH_3). RMN ^{13}C (CD_3OD): δ = 170,4-169,7 (COCH_3), 69,9 (C-3), 69,2 (C-4), 68,9 (C-5), 61,6 (C-6), 52,2 (C-1), 52,0 (C-2), 26,1 (SCH_2CH_3), 25,9 (SCH_2CH_3), 23,2 (NCOCH_3), 20,8 (COCH_3), 14,6 (SCH_2CH_3), 14,3 (SCH_2CH_3). ESIMS: m/z 518,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.5 SÍNTESE DO MACROCICLO PORFIRÍNICO A PARTIR DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO DA GLUCOSAMINA

A estratégia sintética para obtenção da glicoporfirina catiônica **42** está representada no Esquema 16.



Esquema 16: Estratégia de síntese da glicoporfirina catiônica **42**.

3.5.2 3,4,5,6-Tetra-*O*-acetil-2-acetamido-2-desoxi-*aldeído*-D-glucose **38**

Uma amostra do composto **37** (150 mg; 0,3 mmol) foi dissolvida em THF (0,6 mL) e éter etílico (1,5 mL) e mantida sob agitação a -15°C . Foi adicionada vagarosamente uma solução de ácido periódico (137 mg; 0,6 mmol) em THF (0,3 mL). A mistura ficou em agitação por 4 horas. Passado este tempo adicionou-se uma solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol/L (pH 7,0). O composto foi extraído com clorofórmio (2 x 50mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução de sulfito de

sódio 10%, seca com sulfato de sódio anidro e filtrada em lã de vidro. O filtrado teve o solvente evaporado originando o composto **38**, o qual não foi purificado nesta etapa.

3.5.3 3,4,5,6-Tetra-*O*-acetil-2-acetamido-1,2-didesoxi-1,1-dipirril-D-glucocitol **39**

Ao composto **38** (190 mg; 0,49 mmol) foi adicionado pirrol (0,85 ml; 12,25 mmol) e TFA (7,2 μ L). A mistura foi mantida a 0°C por 30 minutos e depois a temperatura ambiente por mais 30 minutos. Passado o tempo, a mistura reacional foi diluída com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L e extraída com clorofórmio. A fase orgânica foi lavada com água, seca com sulfato de sódio anidro e filtrada em lã de vidro. O solvente foi evaporado e o resíduo foi cristalizado com clorofórmio e ciclo-hexano, originando um material sólido **39** (316 mg; 21% de rendimento). RMN ^1H (CDCl_3): δ = 8,88 (s, 1H, NH pirrol), 8,51 (s, 1H, NH pirrol), 6,66 (s, 2H, H-4 pirrol), 6,15-5,99 (b, 4H, H-3; H-2 pirrol), 5,72 (d, 1H, J = 10,02 Hz, NH), 5,34 (t, 1H, H-4), 5,24 (t, 1H, H-3), 5,12 (m, 1H, H-5), 4,79 (m, 1H, H-2), 4,30 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 6,39 Hz, *meso*-H), 4,23 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ = 2,82 Hz, H-6b), 4,06 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ = 6,05 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,43 Hz, H-6a), 2,07 (m, 12H, COCH_3), 1,87 (s, 3H, NCOCH_3). RMN ^{13}C (CD_3OD): δ = 170,9-170,0 (C=O), 129,9 (C-5 pirrol), 128,8 (C-4 pirrol), 117,9 e 108,6 (C-3 pirrol e C-2 pirrol), 107,2; 71,4 (C-3), 70,1 (C-4), 69,5 (C-5), 61,7 (C-6), 51,2 (C-2), 40,47 (C-*meso*), 23,2 (NCOCH_3), 20,7 (COCH_3). ESIMS: m/z 528,5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.5.4 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-3,4,5,6-tetra-*O*-acetil-2-acetamido-2-desoxi-D-glucitol]porfirina **40**

O composto **39** (296 mg; 0,57 mmol) foi dissolvido em diclorometano (123 mL) e em seguida adicionado benzaldeído (61 μ L; 0,57 mmol) e TFA (47 μ L, 0,57 mmol). O meio reacional ficou em agitação a temperatura ambiente por 3 horas, depois adicionado trietilamina (80 μ L) e DDQ (776 mg; 1,2 mmol) ficando em agitação por mais 3 horas. A mistura resultante teve o solvente evaporado, o resíduo foi diluído com acetato de etila, adicionado Florisil® e novamente concentrado. O composto foi purificado em coluna de sílica gel (*eluente*: acetato de etila:diclorometano 1:1) obtendo o composto **40** (103 mg; 15% de rendimento) (CASIRAGHI *et al.*, 1994). RMN ^1H (DMSO_6): δ = 9,88 (d, 4H, J = 5,01 Hz, H- β pirrol), 9,14 (d, 2H, J = 9,06 Hz,

NH - glucosamina), 8,86 (d, 4H, $J = 4,66$ Hz, H- β' pirrol); 8,19 (s, 4H, *o*-Ph), 7,89 (b, 6H, *m* e *p*-Ph), 7,95 (d, 2H, H-2), 6,79 (d, 2H, H-3), 4,23 (b, 2H, H-4), 4,88 (dd, 2H, H-5), 3,77 (dd, 2H, $J_{5,6a} = 4,03$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,10$ Hz, H-6a), 3,56 (dd, 2H, $J_{5,6b} = 6,54$ Hz, H-6b), 2,03-0,61 (m, 30H, COCH_3), -2,88 (s, 2H, NH). RMN ^{13}C (DMSO_6): $\delta = 170,1$ - $167,9$ (C=O), 135,82 (4C, *o*-Ph), 134,4 (4C, C- β' pirrol), 128,8 (4C, C- β pirrol), 127,19 (6C, *m* e *p*-Ph), 74,46 (2C, C-3), 69,56 (2C, C-4), 68,86 (2C, C-5), 61,63 (2C, C-6), 53,69 (2C, C-2), 22,9 – 19,86 (10C, COCH_3). MALDI-TOF: m/z 1181 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

3.5.5 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-2-amino-2-desoxi-D-glucitol]porfirina **41**

A glicoporfirina **40** teve seus grupos hidroxila e amino desprotegidos conforme metodologia utilizada por KUSZMANN (1986), adicionando 3 mL de ácido clorídrico mol/L em 57 mg (0,048 mmol) da glicoporfirina acetilada **40**, deixando em agitação sob refluxo por uma hora. Passado este tempo foi evaporado o ácido e foi purificado o composto **41** em coluna de sílica gel (*eluente*: *clorofórmio:metanol:hidróxido de amônia* 14:5:1) (26 mg, 71% de rendimento) MALDI-TOF: m/z 761 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

3.5.6 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-2-trimetilamônio-2-desoxi-D-glucitol]porfirina **42**

O composto **41** (55 mg; 0,07 mmol) foi dissolvido em metanol (1,4 mL) e colocado em agitação. Em seguida foi adicionado iodeto de metila (145 μL ; 2,33 mmol) e bicarbonato de potássio (70 mg). A mistura ficou a temperatura ambiente por 48 horas. Passado este tempo o solvente foi evaporado e o resíduo neutralizado com solução de ácido clorídrico 1 mol/L e novamente concentrado. O composto **42** foi purificado em coluna de sílica gel (rendimento aproximado de 47%) (*eluente*: *Clorofórmio:metanol:hidróxido de amônio* 14:5:1). MALDI-TOF: m/z 848 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INTERMEDIÁRIOS DE SÍNTESE DE GLICOCONJUGADOS

A preparação de glicoporfirinas e outros glicoconjugados comumente envolvem o preparo de intermediários sintéticos glicídicos para que a ligação entre a porção glicídica e a aglicona (reação de glicoconjugação) ocorra de forma apropriada e em rendimentos apreciáveis. Estes intermediários sintéticos glicídicos são preparados com três objetivos principais: (a) introdução de grupamentos reativos nos carboidratos iniciais, o que permite uma glicoconjugação quimioseletiva, (b) proteção ortogonal dos grupos hidroxila dos carboidratos iniciais para que ocorra a exposição específica de um ou mais grupos OH, os quais podem participar da glicoconjugação e (c) proteção dos grupos hidroxila dos carboidratos para que os mesmos se tornem solúveis em solventes orgânicos (GONÇALVES *et al.*, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2007; DUCATTI *et al.*, 2009a; DUCATTI *et al.*, 2009b).

4.1.1 Obtenção do intermediário de síntese **29** a partir da agarose

Com o objetivo de se obter diferentes materiais glicídicos para a obtenção de outras glicoporfirinas catiônicas, a agarose foi empregada como um material de partida.

Devido à sua grande versatilidade como material inicial para a obtenção de intermediários sintéticos glicídicos (GONÇALVES *et al.*, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2007; DUCATTI *et al.*, 2009a; DUCATTI *et al.*, 2009b), seu custo baixo e a facilidade de obtenção, a agarose comercial foi um dos materiais iniciais de escolha para a obtenção dos derivados glicoporfirínicos.

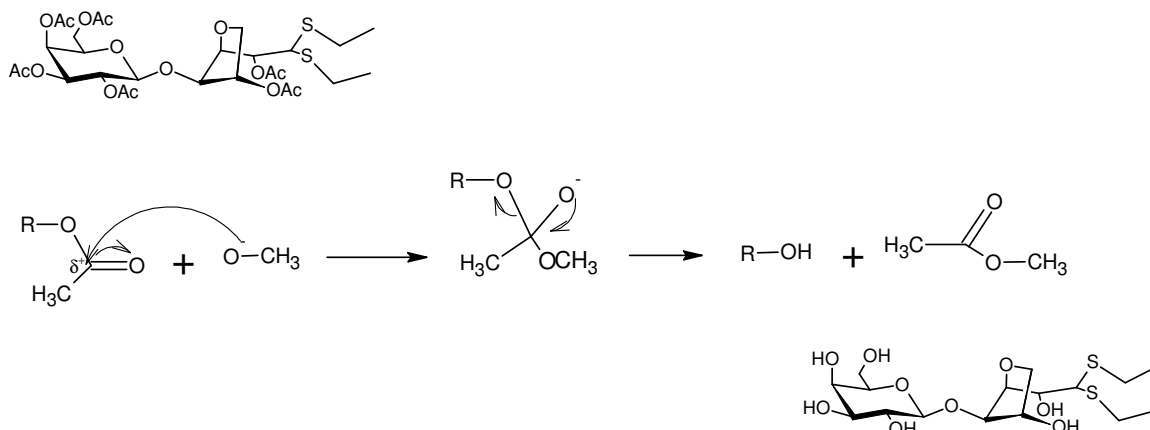
De acordo com a estratégia sintética estabelecida, a primeira etapa a ser executada correspondeu ao preparo do composto **26** (2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-*O*-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal) (ver item 3.3, p. 42). Para isso, primeiramente a agarose comercial foi submetida a uma condição de hidrólise parcial branda, seguindo os métodos de Ducatti (2009). Nestas condições, as ligações 3,6-anidrogalactosídicas da agarose são preferencialmente hidrolisadas para dar origem principalmente ao dissacarídeo agarobiose (**25**), o qual

se apresenta na forma de um aldeído hidratado. Neste caso, não foram realizados processos de purificação para isolar o composto **25**. Assim, o material hidrolisado foi diretamente submetido à reação frente ao etanotiol para resultar o derivado **26** (β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal). Esta reação foi realizada com o intuito de promover proteção ao carbono aldeídico altamente reativo da agarobiose. O grupamento dietilditioacetal somente deve ser removido posteriormente quando a exposição do grupo aldeído for necessária para o preparo dos derivados dipirrometano, já nas etapas finais para a obtenção de glicoporfirinas. O composto **26** foi finalmente per-*O*-acetilado, na presença de anidrido acético e piridina, para gerar o composto **27**.

De acordo com a sequência de síntese proposta, a reação de alquilação regioseletiva para a obtenção do composto **28** requer o derivado não acetilado **26** como material inicial. Apesar disso, a reação de peracetilação se fez necessária para facilitar os processos de extração e purificação da agarobiose dietilditioacetal, pois a mesma não se apresentou solúvel em solventes orgânicos apolares (como o clorofórmio), o que dificultou o processo de purificação. Além disso, o composto **27** apresenta-se mais estável e menos higroscópico que o composto **26**, o que facilita o armazenamento da forma acetilada.

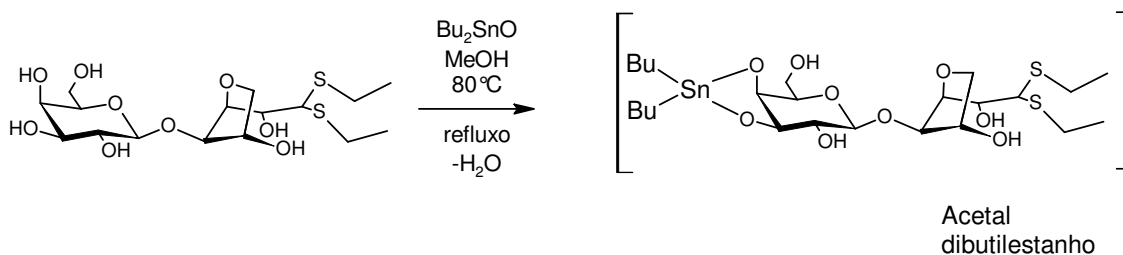
Ao se extrair o composto **27** da reação de introdução dos grupos protetores (dietilditioacetal e acetila), o mesmo foi primeiramente purificado em coluna de sílica gel, tendo como fase móvel ciclo-hexano: acetato de etila (2:1). O procedimento de síntese do composto **27** foi repetido em maiores escalas e, neste caso, foi possível cristalizar o produto com o uso de metanol e água (HIRASE, ARAKI, 1954), o que proporcionou um material puro, como confirmando por RMN ^1H (ANEXO p.88). O assinalamento dos sinais de RMN obtido está de acordo com o relatado na literatura (DUCATI, 2009).

Como comentado anteriormente, a reação subsequente (obtenção do composto **28**) empregou o composto **26**. Neste caso houve a necessidade de desacetilar as hidroxilas do composto **27** logo antes da reação regioseletiva de alquilação. A reação de desacetilação foi realizada na presença de metóxido de sódio, proporcionando rendimento de 87% (Esquema 17). A formação do composto **26** foi confirmada por RMN e espectrometria de massas (Anexo p.87).



Esquema 17: Mecanismo de reação proposto para a desacetilação do composto **27**.

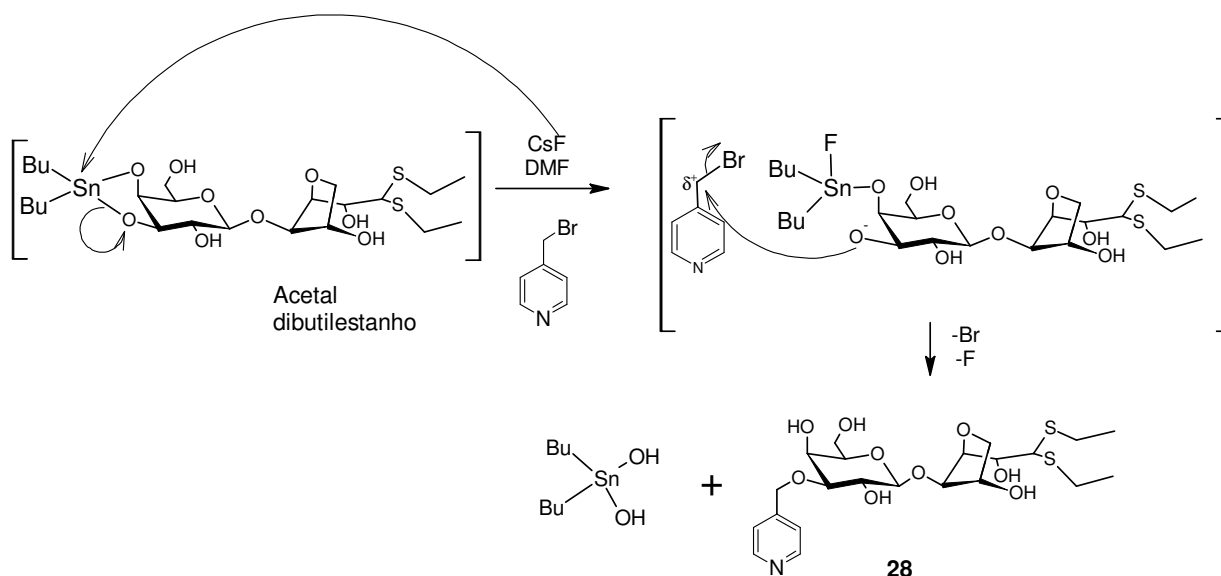
Para a síntese do composto **28** utilizou-se a metodologia empregada por Gonçalves (2005). O material inicial (**26**) foi cuidadosamente seco, para que não houvesse a presença de umidade, assim como os solventes utilizados nesta etapa também foram secos (PERRIN, ARMAREGO, 1996). Neste caso, a ausência de água é muito importante, pois a presença da mesma na reação impede a formação do acetal dibutilestanileno, o qual ocorre na primeira fase da reação durante as 3 horas sob refluxo com metanol (Esquema 18). Devido a este fato, acrescentou-se tolueno para evaporar, por destilação azeotrópica, traços de metanol remanescente e a água formada durante a formação do acetal.



Esquema 18: Formação do intermediário acetal dibutilestanileno.

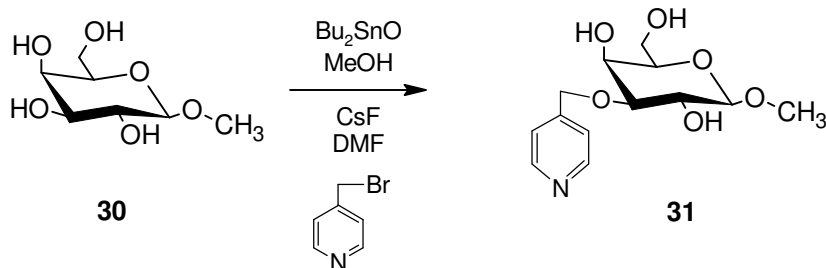
Os acetais de dibutilestanileno são formados principalmente em grupos hidroxila vicinais 1,2-diois ou em dióis *cis* equatorial-axial em anéis piranosídicos. Assim, na reação de obtenção do composto **28**, o acetal de dibutilestanileno foi presumivelmente formado nas posições 3 e 4 do anel galactopiranosídico. A reação subsequente de alquilação foi então regioseletivamente conduzida no átomo de oxigênio ligado ao carbono 3 da unidade galactosídica, pois o acetal dibutilestanho (intermediário da reação) aumenta a nucleofilicidade deste oxigênio levando a reações rápidas, direcionadas e com bons rendimentos. Nestes casos, as reações

de alquilação são auxiliadas e aceleradas pela adição de nucleófilos (como o fluoreto de cério), e utilizam como principal solvente o DMF (GONÇALVES *et al.*, 2007) (Esquema 19). Tanto o DMF quanto o fluoreto de cério foram os reagentes de escolha, pois estudos demonstraram que esta associação foi extremamente efetiva para reações de benzilação, situação que relaciona-se com o presente caso, o qual utiliza como agente alquilante o 4-(bromometil)piridina.



Esquema 19: Mecanismo de reação proposto para a síntese do composto **28**.

Na primeira tentativa de alquilação do composto **26** não foi possível obter o composto **28**. Assim, foram realizados testes utilizando um carboidrato modelo, o qual apresentava uma estrutura semelhante à agarobiose, o metil-*O*-β-galactopiranosil **30** (porção galactopiranosídica). O carboidrato **30** é de fácil obtenção em grandes escalas. Deste modo, a rota sintética para a obtenção do composto **28** foi desenvolvida através da utilização do composto **30** como modelo, visando à obtenção do seu derivado alquilado **31** (Esquema 20).



Esquema 20: Síntese do composto **31**.

Como segunda tentativa de alquilação regioseletiva, utilizando o composto **30** foi empregado o TBAB (brometo de tetra-*N*-butilamônio) como nucleófilo ao invés de fluoreto de cério e como solvente foi utilizado o tolueno. Estas novas condições não propiciaram a formação do composto esperado **31**. Posteriormente também foi realizada uma tentativa desta reação com fluoreto de cério e DMF seco; neste caso também a reação não forneceu o composto desejado. A partir destes testes foi constatado que a reação estava sendo prejudicada pela forma em que se encontrava o agente alquilante: 4-(bromometil)piridina é comercializado na forma de bromidrato de 4-(bromometil)piridina. O fato de o reagente alquilante estar na forma de bromidrato prejudicaria a formação do acetal de dibutiestanileno, pois o equivalente ácido conjugado da base piridínica impede a formação da ligação oxigênio-estanho. Sem a formação do acetal de dibutilestanileno não seria possível obter o produto desejado.

Com o objetivo de se obter o reagente 4-(bromometil)piridina.HBr na forma de base livre, 4-(bromometil)piridina, o reativo na forma de bromidrato foi solubilizado em solução de NaOH (duas diferentes concentrações testadas: 0,01 mol/L e 0,2 mol/L) sendo a mistura extraída com diclorometano. O extrato orgânico teve seu solvente evaporado e este foi utilizado na etapa de alquilação da reação com o acetal de dibutilestanileno do composto **29**. Novamente não houve a formação do composto **31**. Neste caso, provavelmente ocorreu a decomposição do haleto de alquila, devido ao uso do hidróxido de sódio.

Segundo Ronson *et al.* (2010), o reagente 4-(bromometil)piridina.HBr é eficientemente obtido na forma de base livre, por neutralização com uma solução aquosa saturada de carbonato de sódio até pH neutro e extração com diclorometano. O extrato orgânico foi seco em sulfato de magnésio anidro e usado

diretamente como agente alquilante na reação, devido á sua grande instabilidade ao ar.

Para reduzir ao máximo a quantidade de água presente nas etapas da reação fez-se necessário a utilização de vidrarias e reagentes secos. A partir desta metodologia foi possível obter o 4-(bromometil)piridina em sua forma íntegra, o que proporcionou a obtenção do composto **31** a partir da alquilação do acetal de dibutilestanileno do composto **30**. A identidade estrutural do composto **31** foi confirmada por espectrometria de massas (ESIMS, Anexo p.91) e RMN ^1H (Anexo p.92).

As condições estabelecidas para a reação de alquilação regioseletiva do composto **30** foram aplicadas ao composto **26**, o que permitiu a síntese do composto **28** (49% de rendimento), fato confirmado por espectroscopia de massas e RMN ^1H (Anexo p.90). O espectro de ESIMS (Anexo p.89) do composto **28** evidenciou o íon $[\text{M}+\text{H}]^+$ de m/z 523 referente à forma protonada da agarobiose dietil ditioacetal metilpiridilada. No espectro de RMN ^1H foi possível observar os sinais em 8,50 e 7,62 ppm correspondentes ao hidrogênios ligados ao anel piridínico, bem como os sinais referentes à porção glicídica entre 5,00 e 3,00 ppm.

Dois diferentes agentes nucleófilos utilizados em reações de alquilação regioseletiva *via* acetais de dialquilestanileno foram testados para a síntese do composto **31**: CsF (fluoreto de cézio) e TBAB (brometo de tetra-*N*-butilamônio. Os resultados obtidos mostraram claramente que a técnica que utilizou o fluoreto de cézio foi melhor, pois proporcionou melhores rendimentos e menor quantidade de subprodutos de reação. Pelo fato do TBAB ser muito higroscópico, sua adição no meio reacional provavelmente levou à decomposição do intermediário acetal dibutilestanileno.

As etapas finais dos processos sintéticos para a obtenção de glicoporfirinas exigem que os blocos estruturais glicídicos a serem utilizados apresentem seus grupos hidroxila protegidos por grupos que bloqueiem a hidrofiliidade inerente deste substituinte. Para tal, metodologias de per-*O*-acetilação do derivado metilpiridilado **28** foram avaliadas. Aparentemente o grupo metilpiridina associado ao açúcar dificulta a etapa de acetilação, uma vez que condições tradicionais de peracetilação do composto **28** não geraram o composto **29** em rendimentos aceitáveis. Tentativas de per-*O*-acetilação utilizando piridina e anidrido acético com aquecimento a 50 °C e tempos de reação estendidos por 48 horas não forneceram o composto **29**. Não

foram utilizados tempos de reação mais longos para evitar a possibilidade de acetólise do grupo metilpiridínico.

Mais uma vez, um composto de menor complexidade (composto **31**) foi utilizado como modelo para o desenvolvimento de condições reacionais, neste caso, uma reação de acetilação de um carboidrato contendo o grupo metilpiridina. As tentativas de acetilação com o composto **31** foram as seguintes: com iodo ressublimado-anidrido acético ou somente com anidrido acético. Com o iodo ressublimado (3,5 mol/100g de carboidrato) e anidrido acético (20 eq) foi possível obter o composto **32**, porém a reação não foi considerada adequada pelo fato do iodo remover o grupo metilpiridina, mesmo que parcialmente. A segunda alternativa foi realizada somente com anidrido acético (20 eq) e utilizando como solvente diclorometano seco. Conforme espectroscopia de massa (Anexo p.92) foi possível obter o composto **32** com tempo de reação de 48 horas.

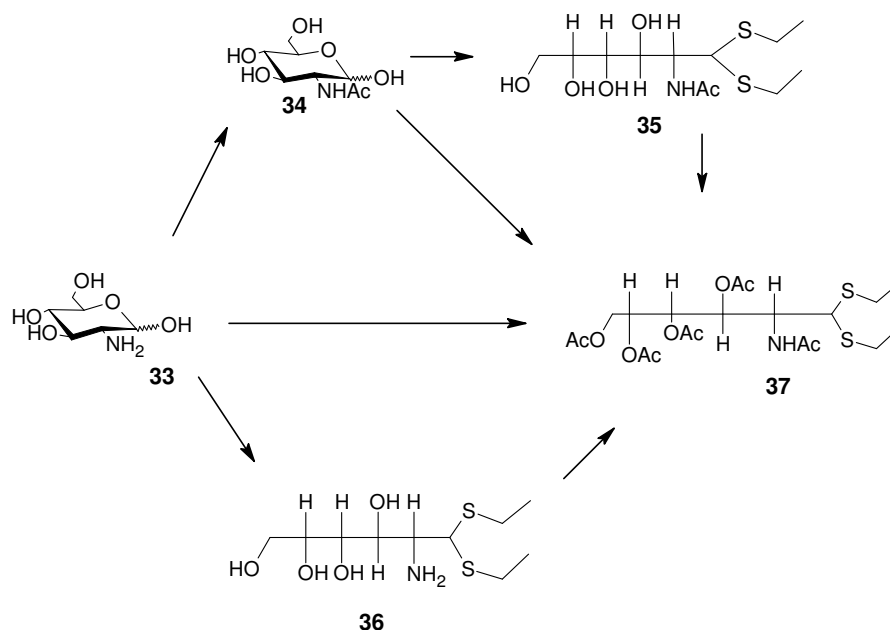
Utilizando a rota sintética de obtenção do composto **32** foram realizadas algumas tentativas para a obtenção do composto **29** a partir do composto **28**. Nestes experimentos foram executados em presença de diclorometano seco e DMF, submetendo o composto **28** em condições de acetilação. Obteve-se o composto per-*O*-acetilado (**29**) tendo como solvente o DMF, fato confirmado por ESIMS (Anexo p.90) e RMN ^1H , onde observamos os sinais análogos do composto **28** com deslocamento químico e o surgimento dos sinais característicos de grupos acetil. O DMF é um solvente que tradicionalmente não promove de maneira adequada a reação de acetilação, o que explica os baixos rendimentos obtidos. Sua escolha foi uma alternativa para uma acetilação direta do meio reacional de alquilação para acetilação. Portanto, as condições de peracetilação ainda não foram completamente definidas e serão objetos de estudo futuros.

4.1.2 Síntese do intermediário **37** a partir da glucosamina **33**

A estratégia delineada para a obtenção da porfirina catiônica glicosilada **42** consistiu em uma maneira mais direta para a síntese deste tipo de composto, uma vez que o carboidrato precursor (glucosamina **33**) é originalmente aminado. Conforme rota sintética estabelecida (ver item 3.5, p. 50) foram testadas diferentes abordagens, as quais convergiram no preparo do derivado dietilditioacetil peracetilado da glucosamina (**37**). Estas diferentes abordagens permitiram avaliar os

rendimentos globais obtidos para o composto **37**, observando os seguintes aspectos:

- (a) efeitos de proteção inicial do grupo amino através da geração do derivado dietilditioacetal (**35** e **36**) a partir da glucosamina **33** ou da *N*-acetil-glucosamina **34** e;
- (b) efeito da utilização de procedimentos *multi-step*, *one pot* ou realização de purificação entre as etapas (Esquema 21).



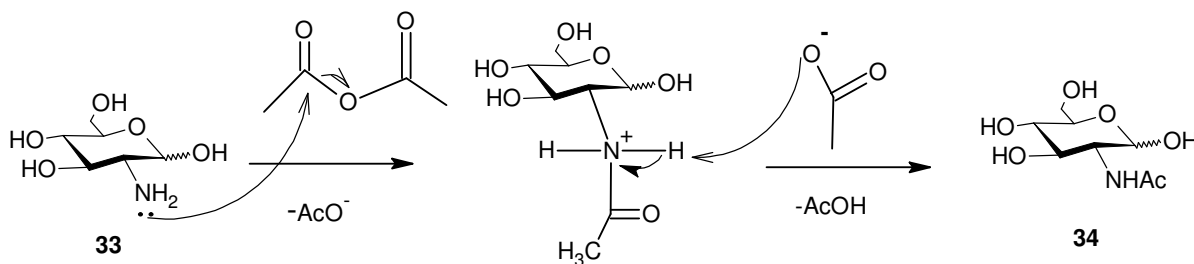
Esquema 21: Abordagens sintéticas para a obtenção do composto **37** a partir do composto **33**.

Muitas destas reações consistiram em adaptações de procedimentos relatados no passado (WOLFROM; SUGIHARA, 1950; WOLFROM; ANNO, 1952; HOUGH; TAYA, 1957; OGAWA *et al.*, 1974). Entretanto as reações originais apresentaram baixos rendimentos, tempos de reações longos e utilizam alguns reagentes bastante tóxicos. Assim, os procedimentos sintéticos aqui utilizados foram adaptados visando a melhoria destes aspectos.

4.1.2.1 Preparo do composto **28** via *N*-acetil-glucosamina (**34**)

Segundo a literatura, uma rota sintética presumivelmente rentável em quantidade para a obtenção do composto **37** consistiria na utilização da 2-acetamido-2-desoxi-D-glucose (*N*-acetilglucosamina **34**) como material de partida para a obtenção do correspondente derivado dietilditioacetal (**35**). O composto **34**

pode ser obtido comercialmente ou através da *N*-acetilação do composto **33** na presença de metóxido de sódio e anidrido acético (WOLFROM; ANNO, 1952). Neste trabalho o composto **34** foi preparado com 55% de rendimento. O mecanismo de acetilação está representado no Esquema 22.

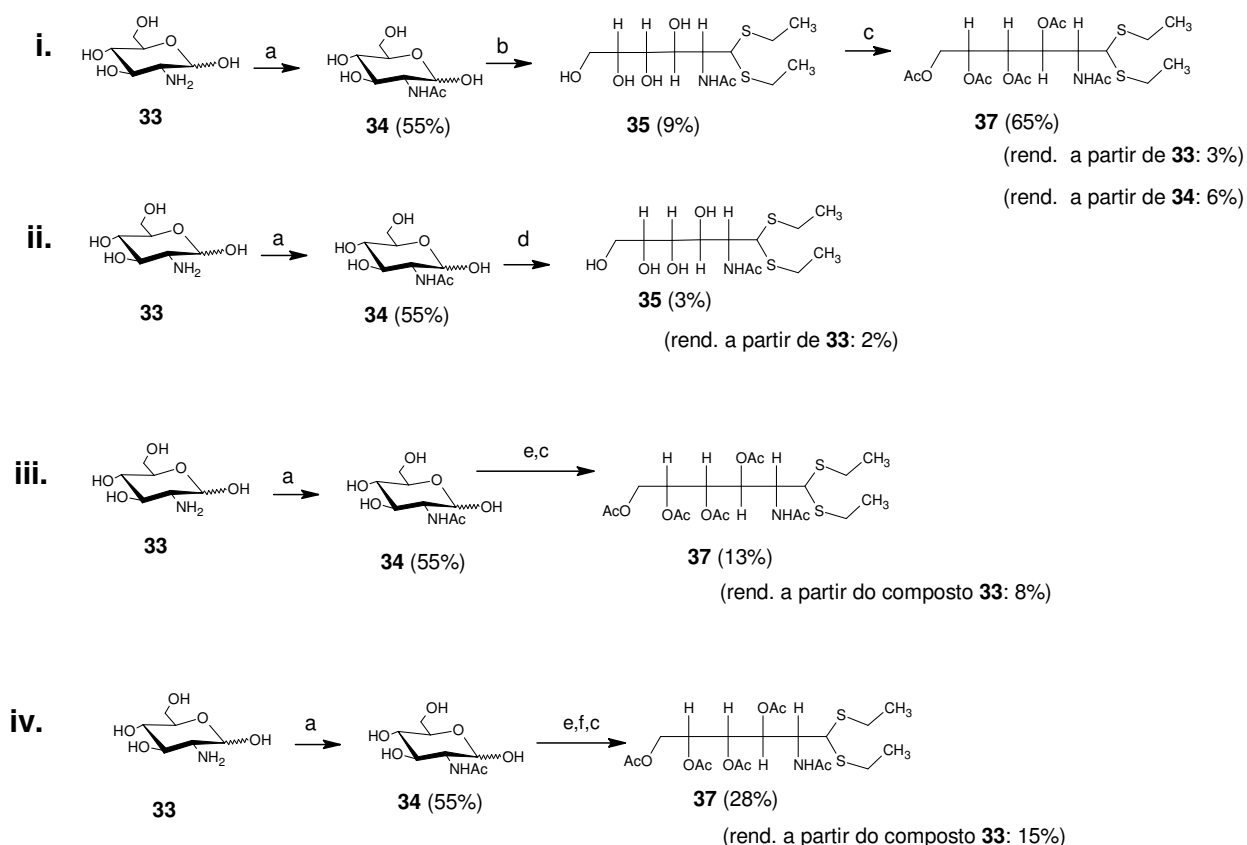


Esquema 22: Mecanismo de reação proposto para a síntese do composto **34**.

Subsequentemente, seguindo a metodologia descrita por Wolfrom e Anno (1952), o composto **34** foi submetido à reação com ácido clorídrico e etanotiol, a fim de preparar o 2-acetamido-2-desoxi-D-glucose dietilditioacetal (**35**), que foi obtido de forma isolada com rendimentos de 9% e 3%, dependendo da metodologia de processamento e purificação empregados (Esquema 18i e 18ii, respectivamente).

Apesar dos baixos rendimentos alcançados, o composto **35** foi obtido em bom estado de pureza (ver espectro de RMN ^1H – Anexo p.94).

O método original de obtenção do composto **37** a partir do composto **34** (WOLFROM; ANNO, 1952) empregou carbonato de chumbo (remoção do etanotiol remanescente e neutralização do meio reacional) ao final da mercaptólise. Em seguida foi realizado o isolamento do composto **35** e peracetilação do mesmo. A fim de evitar a utilização deste sal de chumbo, foram empregadas algumas alternativas, tais como: a remoção do etanotiol com corrente de N_2 e a neutralização do meio reacional com carbonato de cálcio ou resina aniônica (CO_3^{2-}). A avaliação dos rendimentos em função dos diferentes processamentos do meio reacional, bem como o efeito do uso de passos de purificação (ou não) entre a mercaptólise e peracetilação está resumida no Esquema 23. Neste estudo, primeiramente o composto **35** (previamente isolado) foi peracetilado com anidrido acético e piridina (rendimento: 65%), fornecendo o composto **37** com 3% e 6% de rendimentos a partir dos compostos **33** e **34**, respectivamente (Esquema 23i).



a: MeONa, Ac₂O (40°C); crist. MeOH frio

b: HCl, EtSH (0°C); res. an. (CO₃⁻²), lav. MeOH, col. sílica (AcOEt:MeOH - 8:1), crist. EtOH:CHCl₃:Et₂O

c: Ac₂O, Piridina; extr. CHCl₃, lav. CuSO₄ 5% e H₂O, col. sílica (AcOEt:ciclo-hexano - 1:1)

d: HCl, EtSH (0°C); CaCO₃, extr. EtOH e filtr. Celite, col. sílica (AcOEt:MeOH - 8:1), crist. EtOH:CHCl₃:Et₂O

e: HCl, EtSH (0°C)

f: CaCO₃, extr EtOH e filtr. Celite

Esquema 23: Estratégias sintéticas para a obtenção dos compostos **34** e **35**, e composto **37** (via *N*-acetil-glucosamina).

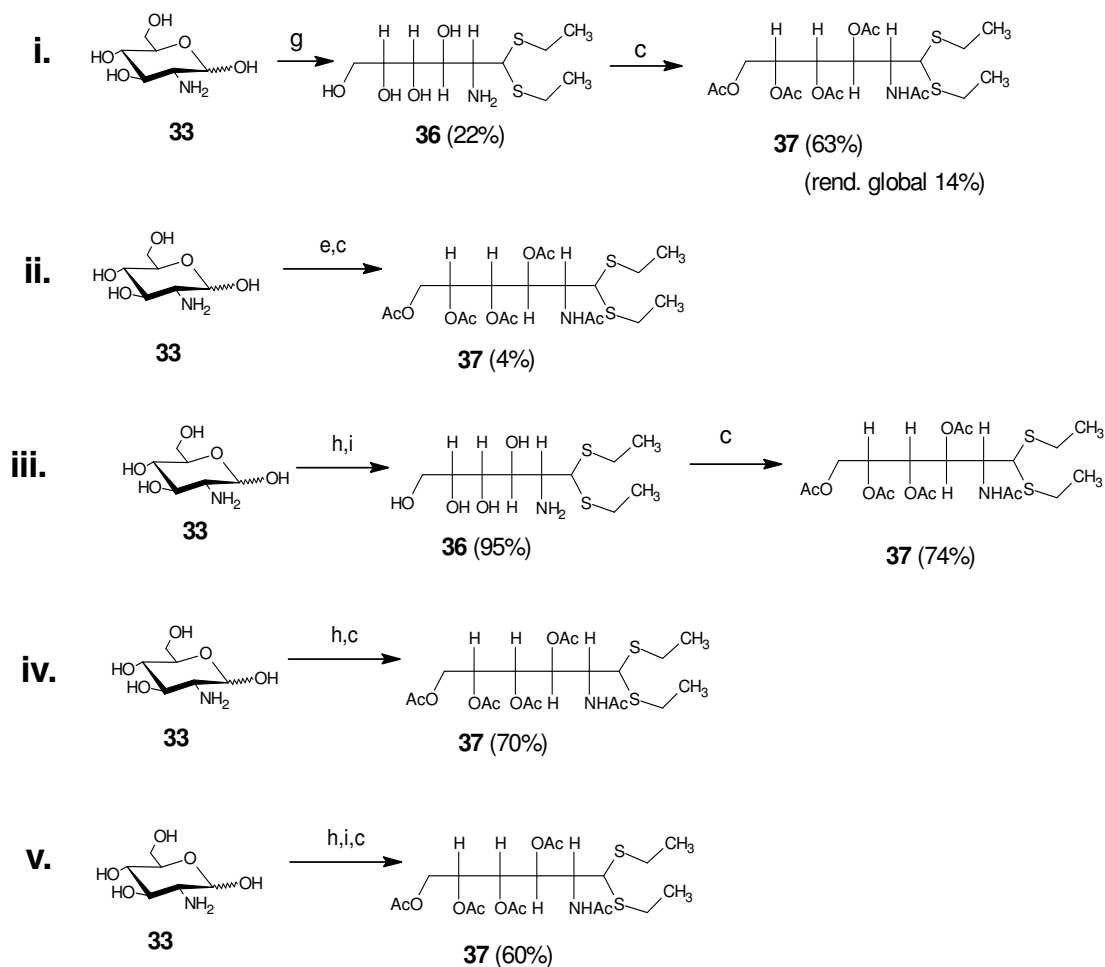
Em outro caso (Esquema 23iii) o meio reacional contendo ácido clorídrico e etanotiol não foi removido, sendo o reagente acetilante (piridina/anidrido acético) adicionado sobre esta mistura. Este procedimento forneceu rendimentos de 8% a partir de **33** e 13% a partir de **34**. De acordo com o Esquema 23iv, o melhor rendimento para a obtenção de **37**, via **34**, correspondeu à realização de uma purificação parcial (não cromatográfica) do composto **35**, seguindo-se de peracetilação. Neste caso, os rendimentos foram de 15% e 28% a partir dos compostos **33** e **34**, respectivamente.

4.1.2.2 Preparo do composto **37** diretamente a partir da glucosamina (**33**)

Para a obtenção do composto **37** por rotas que não envolvessem a síntese dos compostos **34** e **35**, os procedimentos utilizados foram baseados novamente em estudos prévios realizados por Wolfrom e Anno (1952), o qual consiste em duas etapas distintas: obtenção do derivado dietilditioacetil amina (**36**) e de uma reação de peracetilação que gera o composto **37**. Neste caso, o rendimento alcançado na primeira etapa foi de 22%. Este rendimento relativamente baixo pode ser explicado pelo fato do material inicial.HCl **33** não se solubilizar adequadamente no meio reacional constituído de uma mistura de ácido clorídrico concentrado e etanotiol. Tentativas de solubilização prévia do composto **33** em quantidade mínima de água também não levaram à melhoria do rendimento. O composto **36** foi então peracetilado na presença de anidrido acético e piridina gerando o composto **37** com 63% de rendimento (rendimento global de 14% - Esquema 24i).

Uma tentativa de realização de duas reações em um mesmo meio reacional (reagente acetilante sobre o meio reacional da mercaptólise) também foi conduzida, entretanto o rendimento foi ainda inferior quando comparado ao procedimento em dois passos (Esquema 24i e 24ii).

Em busca de melhores rendimentos, a reação de obtenção do composto **36** foi iniciada de forma a alcançar a solubilização máxima do composto **33** no meio reacional, uma vez que na metodologia original essa solubilização foi parcial. Para isso, uma amostra de cloridrato de glucosamina **33** foi dissolvida adicionando-se lentamente ácido clorídrico concentrado sob forte agitação e aumentando a quantidade adicionada do ácido, em relação ao descrito na literatura, alcançando a solubilização total do material inicial (0,1 g/mL). Posteriormente o etanotiol foi adicionado, porém na mesma quantidade mencionada na literatura. Ao final das 48 horas de reação, obteve-se o produto **36**, neste caso com rendimento acima de 95% (Esquema 24iii). Com a adição lenta do ácido clorídrico e em maior quantidade, garantiu-se que a água presente no ácido (ácido clorídrico concentrado, 37% p/p) fosse dissolvendo o material inicial **33** com mais eficácia e assim favorecendo a reação na formação do produto **36** cujo mecanismo encontra-se proposto no Esquema 25.



c: Ac_2O , Piridina; extr. CHCl_3 , lav. CuSO_4 5% e H_2O , col. sílica (AcOEt :ciclo-hexano - 1:1)

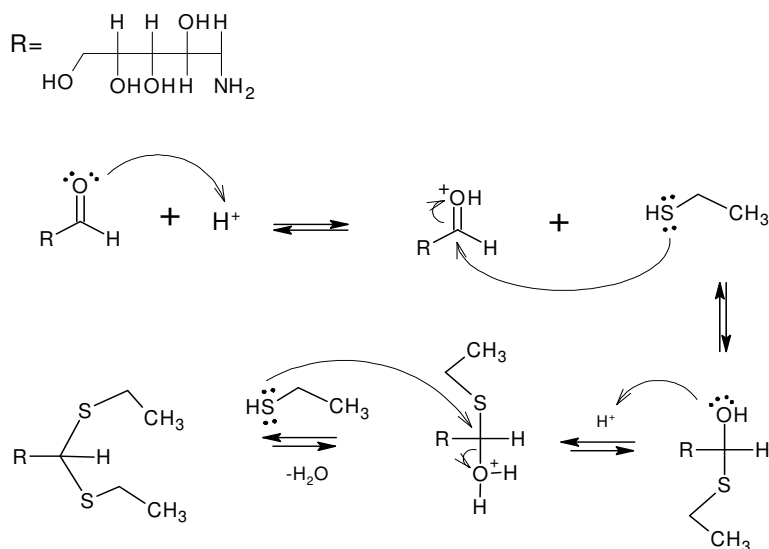
e: HCl , EtSH (0°C , 10 min. após t.a. 48 h)

g: HCl , EtSH (0°C , 10 min. após t.a. 48 h), neutr. NH_4OH , col. sílica (CHCl_3 : MeOH : NH_4OH - 6:6:1)

h: HCl , EtSH (0°C , 10 min. após t.a. 48 h), neutr.res. an. (CO_3^{2-}), lav. EtOH

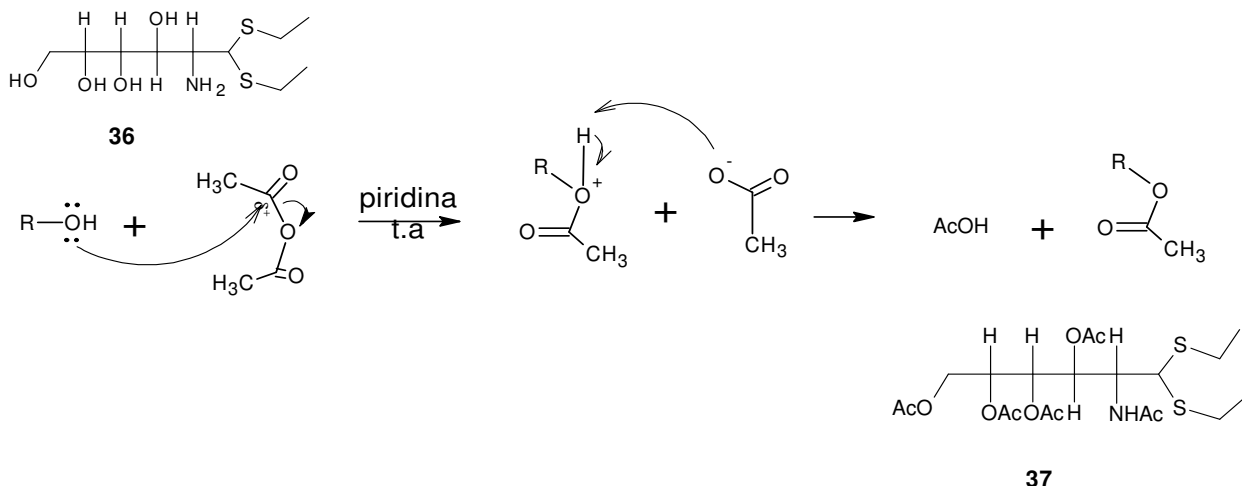
i.col.sílica (CHCl_3 : 2-Propanol: NH_4OH - 8:6:1)

Esquema 24: Estratégias sintéticas para a obtenção dos compostos **36** e **37** a partir da glucosamina **33**.



Esquema 25: Mecanismo de reação proposto para a síntese do composto **36**.

Com a melhoria no rendimento observado para o composto **36**, os mesmos tipos de tentativas de acetilação direta realizadas envolvendo o composto **35** (rota via *N*-acetilglucosamina – Esquema 23) também foram realizadas para a obtenção do composto **37** via composto **36** (Esquema 24iv e 24v). Nestas tentativas, a melhor opção correspondeu à síntese delineada no esquema 24iv. Neste caso, após a reação de mercaptólise, o etanotiol em excesso foi eliminado com fluxo de nitrogênio, seguindo-se de neutralização com resina aniônica (CO_3^{-2}), evaporação do solvente e ressuspensão do resíduo com etanol. O resíduo ressuspenso foi filtrado (eliminação do material inicial remanescente) e concentrado novamente seguindo-se da adição de piridina e anidrido acético (Esquema 26). Este procedimento proporcionou a formação do composto **37** em um rendimento global de 70% a partir da glucosamina **33**.



Esquema 26: Mecanismo de reação proposto para a síntese do composto **37**.

Tendo sido estabelecida a estratégia com melhor rendimento para a obtenção do 3,4,5,6-tetra-*O*-acetil-2-acetamido-2-desoxi-D-glucosedieltiditoacetal **37**, o qual se trata do esquema 24iv, reunimos material em quantidade suficiente e em grau de pureza apropriado para prosseguir na rota sintética de obtenção da glicoporfirina catiônica **42**.

Os compostos **34**, **35**, **36** e **37** já tinham sua síntese descrita na literatura. Entretanto, no presente trabalho, além dos rendimentos alcançados terem sido substancialmente melhores que os descritos, os reagentes tóxicos tradicionalmente utilizados foram evitados. Adicionalmente, a completa atribuição dos sinais nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C foi realizada (vide Anexo).

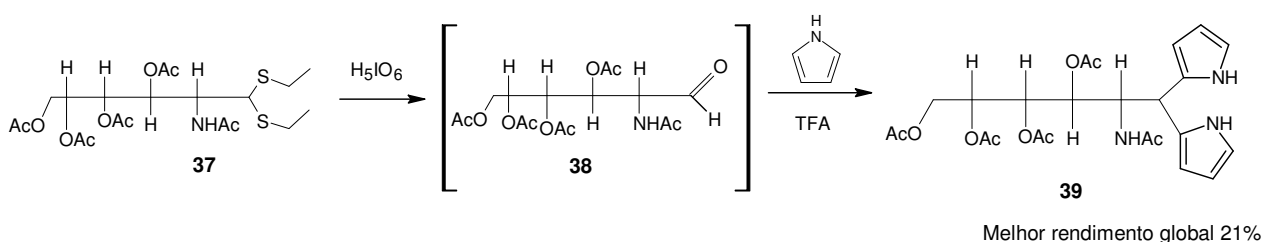
4.2 SÍNTESE DO MACROCICLO PORFIRÍNICO **42** A PARTIR DO INTERMEDIÁRIO GLICÍDICO DA GLUCOSAMINA **37**

4.2.1 Oxidação seletiva do composto **37**: preparação do aldeído **38** para a síntese do dipirrometano **39**

Em teoria, a maneira mais simples de se obter uma glicoporfirina *meso*-substituída consiste na ciclocondensação-oxidação direta de um glicoaldeído com pirrol. Entretanto, relatos encontrados na literatura (LÓ, 2011; CASIRAGHI *et al.*, 1994) sugerem que alguns aldeídos (como por exemplo, derivados 1-*C*-desoxialditóis) não resultam nas glicoporfirinas correspondentes diretamente por

este tipo de síntese. Nestes casos, a utilização dos derivados do dipirrometano garante a presença da porção carboidrato de interesse na porfirina a ser sintetizada. Assim, o próximo passo do presente trabalho consistiu na obtenção do aldeído (**38**) derivado do composto **37** com posterior formação do dipirrometano correspondente (**39**). Estas reações foram realizadas com base nos métodos já empregados anteriormente no laboratório onde o presente trabalho foi conduzido (LÓ, 2011). Nesta etapa, o composto **37** foi submetido à reação com ácido periódico, para a desproteção do grupo aldeído, a qual se encontrava protegida na forma do grupamento dietilditioacetal. De acordo com Ló (2011), quando se utiliza o dietilditioacetal derivado da galactose, a reação de exposição do grupamento aldeído é realizada através de uma oxidação seletiva que ocorre no C-1 (carbono tioacetálico). Para tal, é necessário realizar a mistura dos reagentes em banho de gelo. Remove-se o banho de gelo e o meio reacional alcança então a temperatura ambiente gradativamente. O consumo total do material inicial ocorre em 20 minutos, neste caso.

O aldeído **38** é presumivelmente muito sensível, portanto logo após sua síntese foi necessária sua utilização. Devido a este fator, o composto **38** não foi purificado, sendo o mesmo diretamente utilizado na síntese do dipirrometano **39**. Para esta reação, pirrol e TFA foram adicionados ao composto **38** recém-preparado, extraído a partir da reação de oxidação e evaporado seu solvente. Com estes procedimentos obteve-se o dipirrometano **39** (Esquema 27) com rendimento de 10% a partir do composto **37**.



Esquema 27: Síntese do composto **39** a partir do composto **37**.

Com o intuito de alcançar melhores rendimentos, primeiramente a reação de formação do composto **38** foi estudada tomando como base o cálculo do rendimento obtido para o composto **39**. Assim, foram testadas algumas modificações na reação de obtenção do aldeído **38**: a) alteração do tempo de reação (10, 20, 30, 40, 60 e

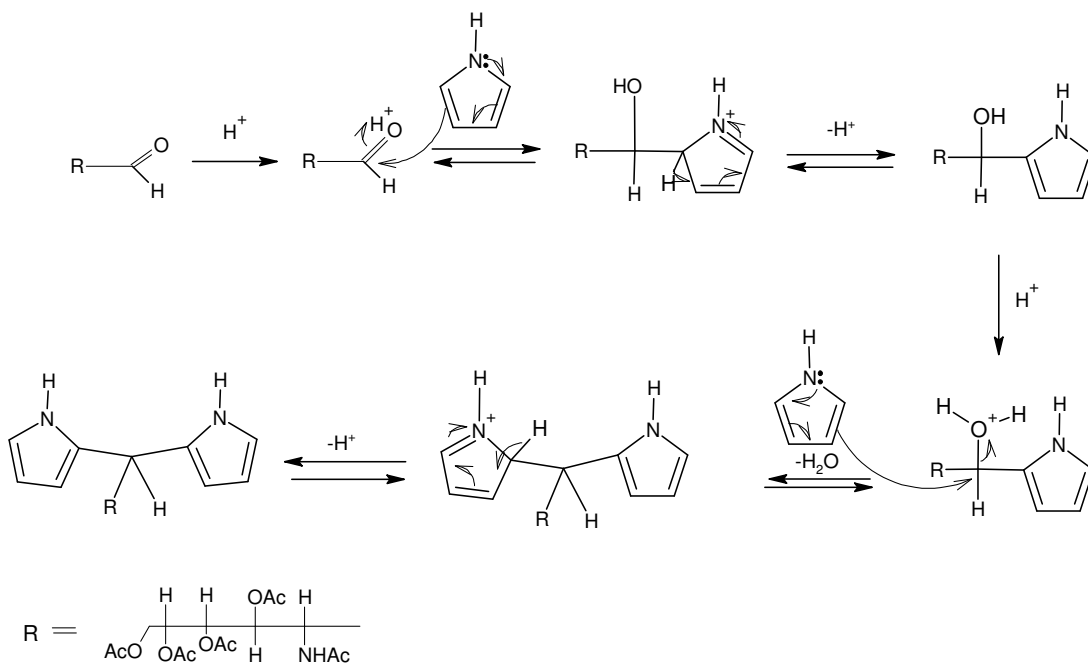
120 minutos); b) utilização de proteção da luz e c) alteração da temperatura da reação.

As variações de tempo de reação e proteção da luz não levaram a maiores rendimentos em comparação com as condições originais. Já a diminuição da temperatura foi o fator determinante neste caso. O composto **37** foi oxidado mantendo-se a temperatura ambiente a 0°C ou a -15°C. Nestes experimentos também foi considerado o tempo de reação, pois esta era interrompida com base no consumo total do material inicial **37**, inicialmente era finalizada a reação em 40 min (através de CCD do meio reacional). As condições empregando 0°C e -15°C resultaram em rendimentos semelhantes (~20%). Entretanto, a reação conduzida a -15 °C (com 4 h de reação) proporcionou uma purificação consideravelmente mais fácil do composto **39**, devido à reduzida quantidade de subprodutos, quando comparada à condição a 0°C.

Analizadas as melhores condições para a obtenção do aldeído **38**, algumas modificações na reação destinada ao preparo do dipirrometano **39** foram introduzidas. As condições de condensação para a obtenção de dipirrometanos utilizadas por Ló (2011) empregavam excesso de pirrol e TFA para reagir com o aldeído de interesse por 30 minutos a 60°C, de acordo com o mecanismo de reação proposto no Esquema 28. Após várias tentativas, fixando a etapa de preparação do aldeído e variando o tempo e a temperatura da reação de condensação, as melhores condições foram definidas da seguinte maneira: (a) oxidação do composto **37** por 4 h a -15°C; (b) extração do meio reacional com clorofórmio; (c) reação de condensação no resíduo do extrato clorofórmico (evaporado o solvente-CHCl₃) por 30 min a 0°C e então por mais 30 min a temperatura ambiente (**39**, 21% a partir do **37**). Apesar do rendimento similar ao obtido antes da otimização da reação de condensação, o composto **39** pode ser obtido puro na forma de cristais, quando utilizando as condições otimizadas.

Durante a purificação do composto **39** um ponto foi observado: a composição da fase móvel utilizada na purificação cromatográfica do mesmo foi decisiva na obtenção do produto cristalizado. Utilizando-se uma mistura de hexano/álcool isopropílico foi possível obter o dipirrometano **39** na forma de cristais. Ao contrário, utilizando-se acetato de etila/ciclo-hexano, o material não cristalizava e não alcançava a pureza necessária para a etapa seguinte (síntese da glicoporfirina **40**).

A confirmação da identidade estrutural do composto **39** se deu por ESIMS (Anexo p.99), fornecendo a massa de seu íon molecular mais o íon sódio $[M+Na^+]^+$, e por RMN, onde o experimento de HSQC primeiramente evidenciou os hidrogênios ligados carbono 6 da porção glicídica, identificados por dois sinais no espectro de 1H que correlacionaram com um único sinal no espectro de ^{13}C . A partir daí os outros hidrogênios da porção glicídica foram atribuídos, utilizando o espectro de COSY (Figura 8). Os hidrogênios ligados aos nitrogênios pirrólicos e amida foram evidenciados, uma vez que os mesmos não apresentaram correlação com carbono no espectro de HSQC (Figura 9).



Esquema 28: Mecanismo de reação proposto para a síntese do composto **39**.

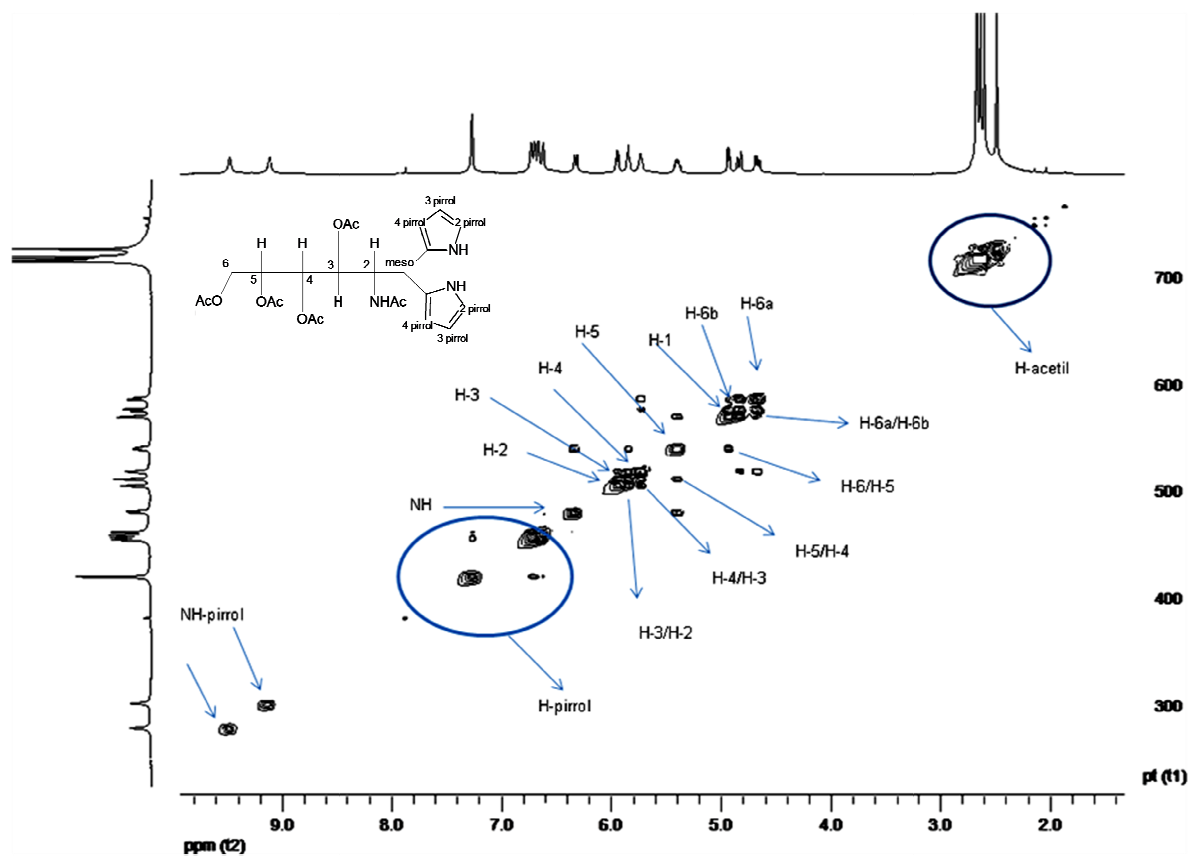


Figura 8: Espectro de RMN COSY do composto **39**, CDCl_3 , 400MHz, 30°C.

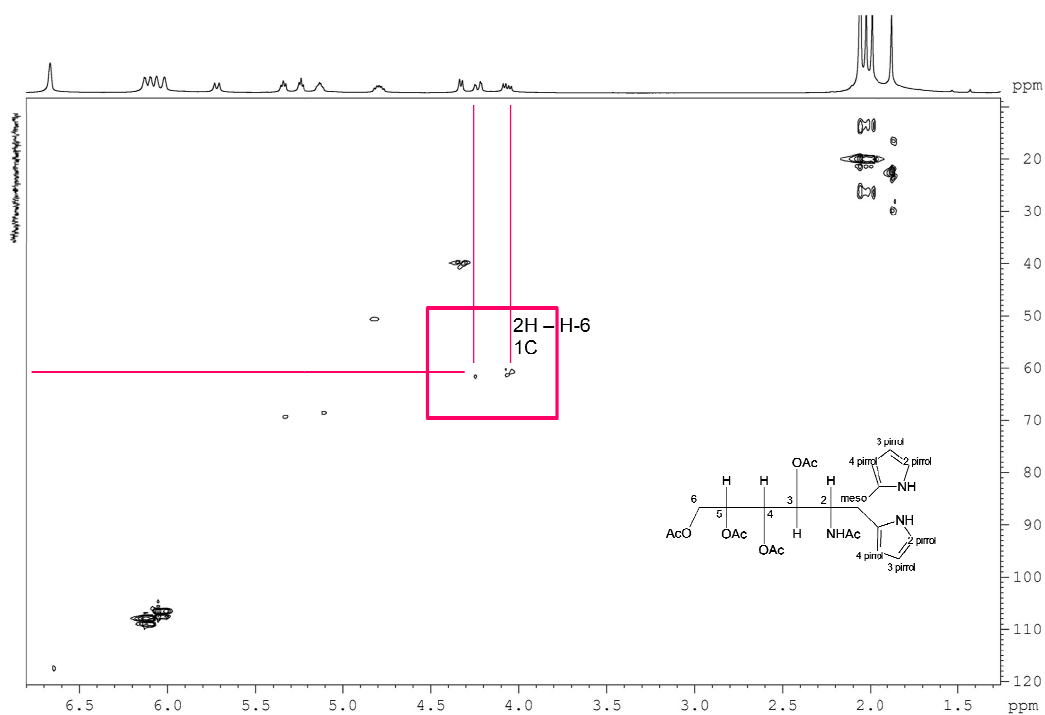


Figura 9: Espectro de RMN HSQC do composto **39**, CDCl_3 , 400 MHz, 30°C, mostrando os H6 do carboidrato.

4.2.2 Síntese da glicoporfirina **40**

Apesar de rotas sintéticas destinadas à obtenção de glicoporfirinas similares ao composto **40** já terem sido estabelecidas (LÓ, 2011; CASIRAGHI *et al.*, 1994), em nenhum dos exemplos conhecidos a glicoporfirina sintetizada tinha em sua porção glicídica um grupamento nitrogenado (acetamido ou amino). A primeira tentativa de obtenção do composto **40** foi realizada de acordo com a metodologia de Ló (2011), a qual utiliza dois passos sintéticos em um mesmo meio reacional: (a) reação de ciclocondensação catalisada por BF_3 entre o dipirrometano **39** e benzaldeído e (b) oxidação heterogênea do porfirinogênio correspondente com dióxido de selênio. Através desta metodologia, a porfirina **40** foi obtida com apenas 3% de rendimento sendo também muito laboriosa sua purificação devido à presença de vários contaminantes.

Assim, alguns testes visando modificações da reação de obtenção da glicoporfirina **40** fizeram-se necessários. De acordo com a Tabela 1, estes testes basearam-se no uso da combinação das condições estabelecidas por Ló (2011), Casiraghi *et al.*, (1994) e Sharghi e Nejad (2004). Os melhores rendimentos obtidos com este estudo foram alcançados utilizando a metodologia original de Casiraghi e colaboradores (1994): (a) ciclocondensação catalisada por TFA e (b) oxidação do porfirinogênio formado por DDQ (**40**; 15%). Um dos possíveis mecanismos envolvidos na formação de **40** é mostrado no Esquema 29. Ainda é importante comentar que a utilização de purificação por coluna de sílica não proporcionou a remoção de DDQ (e/ou seu derivado oxidado), mesmo após várias cromatografias. Neste caso, foi necessário o uso de Florisil® como fase estacionária, sendo assim possível a purificação de **40** com apenas um procedimento cromatográfico.

TABELA 1. Estudo da síntese da glicoporfirina **40**

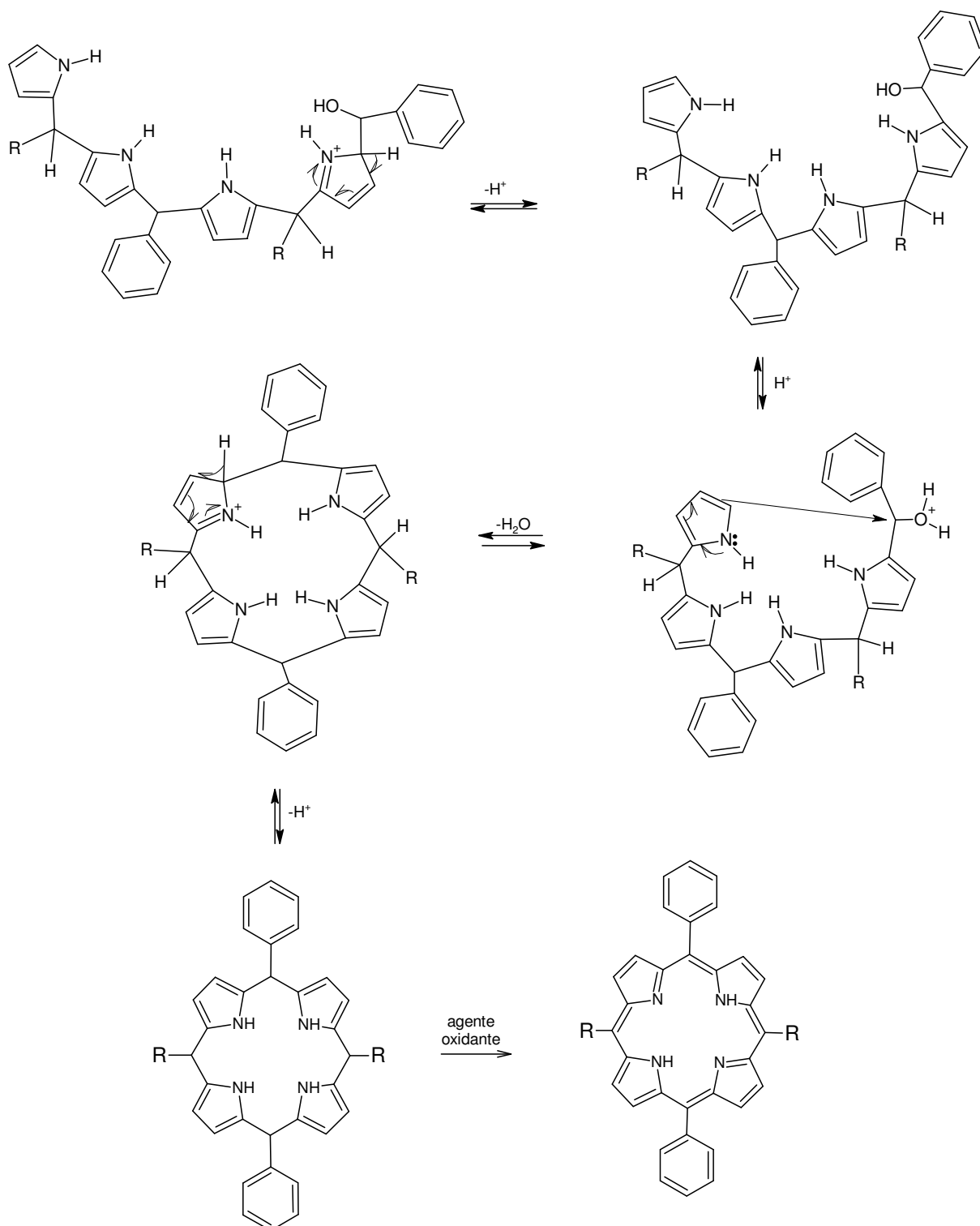
Entrada	CICLOCONDENSAÇÃO ^a				OXIDAÇÃO		RENDIMENTO (composto 25)
	catalisador	temperatura	atmosfera	tempo	oxidante	tempo	
1	BF ₃ (Et) ₂ O	ambiente	ar atmosf.	30 min	SeO ₂	1 h	3%
2	BF ₃ (Et) ₂ O	refluxo	ar atmosf.	30 min	SeO ₂	1 h	3%
3	TFA	ambiente	ar atmosf.	3 h	SeO ₂	1 h	traços
4	CF ₃ SO ₂ Cl	ambiente	N ₂	1 h	O ₂ ^c	4 h	n.d. ^b
5	CF ₃ SO ₂ Cl	ambiente	N ₂	1 h	DDQ	3 h	n.d. ^b
6	BF ₃ (Et) ₂ O	ambiente	ar atmosf.	30 min	DDQ	3 h	6%
7	BF ₃ (Et) ₂ O	ambiente	N ₂	30 min	DDQ	3 h	5%
8	TFA	ambiente	ar atmosf.	3 h	DDQ	3 h	15 %

a. Solvente da reação: CH₂Cl₂

b. Não detectado

c. Fluxo de ar

Esquema 29a: Mecanismo de reação proposto para a síntese da glicoporfirina **40**.



Esquema 29b: Mecanismo de reação proposto para a síntese da glicoporfirina **40**.

Os rendimentos para a síntese de glicoporfirinas e para porfirinas em geral costumam ser muito baixos (ZHENG; PANDEY, 2008). Assim torna-se difícil a avaliação do melhoramento das condições sintéticas com base em rendimentos,

uma vez que a diferença entre os valores podem não ser confiáveis. Apesar disto, algumas conclusões puderam ser delineadas com os resultados mostrados na Tabela 1:

- Em estudos que estão sendo realizados pelo nosso grupo de pesquisa, a combinação das condições empregando $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$ /refluxo e dióxido de selênio, as quais vêm mostrando muito superiores a qualquer condição descrita na literatura, não foram apropriadas quando utiliza-se dipirrometanos contendo porções glicídicas nitrogenadas.

- O dióxido de selênio pareceu ser particularmente prejudicial ao rendimento, neste caso. Provavelmente, alguma degradação ocorreu especificamente ao reagir este oxidante com o porfirinogênio contendo a porção glicídica nitrogenada.

- O uso de atmosfera inerte ou aumento da temperatura não favoreceram os rendimentos.

- O catalisador $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ não promoveu a ciclocondensação do benzaldeído com o dipirrometano **39**.

- A reação se processou com melhores rendimentos com a utilização de um ácido de Bronsted-Lowry (TFA) como catalisador da ciclocondensação combinado a uma quinona de alto potencial oxidativo (DDQ). Analisando de forma isolada os resultados proporcionados pelo uso do $\text{BF}_3\text{O}(\text{Et})_2$, parece que o ácido de Lewis, neste caso, é menos eficiente. O contrário é normalmente observado na síntese deste tipo de composto em nosso grupo de pesquisa.

A porfirina **40** também foi caracterizada por RMN de ^{13}C e ^1H , e por espectrometria de massas. Neste caso, a técnica de espectrometria de massas utilizada compreendeu o uso do MALDI-TOF, o qual é apropriado ao estudo de compostos que apresentam a massa molecular elevada (como é o caso de algumas porfirinas). O espectro de MALDI-TOF da porfirina **40** (Anexo p.101) mostrou seu íon molecular na forma protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ com m/z 1181.

O espectro de COSY de **40** (Figura 8) possibilitou correlacionar os deslocamentos químicos dos núcleos de ^1H vicinais acoplados. Com o auxílio do espectro de HSQC foi possível realizar o assinalamento completo de RMN ^1H e ^{13}C para esta porfirina.

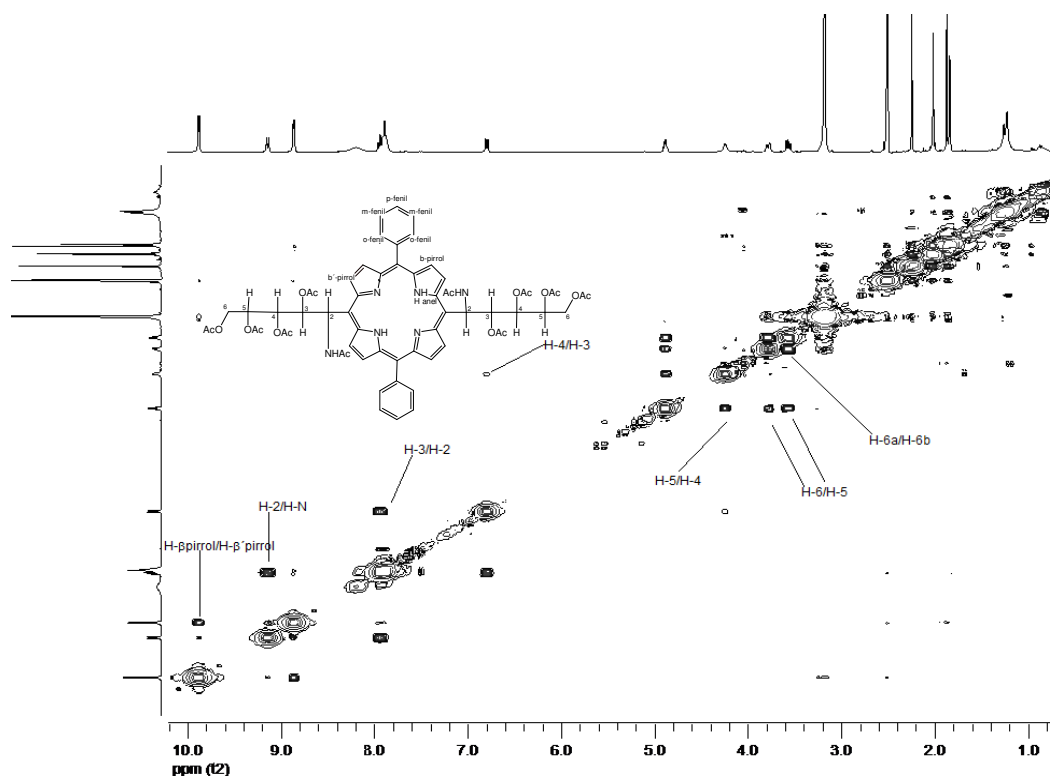


Figura 8: Espectro de RMN COSY da glicoporfirina **40**.

4.2.3 Desacetilação da glicoporfirina **40**

O próximo passo empregado na rota de obtenção da glicoporfirina catiônica **42** foi desproteger simultaneamente os grupos hidroxila e grupo amino da porção glicídica da porfirina peracetilada **40**, baseando-se na metodologia de Kuszmann (1986). A reação foi realizada adicionando-se HCl 1 mol/L em uma amostra da glicoporfirina **40**, e mantendo-se o meio reacional em refluxo por 1 hora. Com o intuito de garantir que todo o material fosse desacetilado, a reação foi também realizada com 2 horas de refluxo, entretanto esta última condição provocou algum tipo de degradação diminuindo consideravelmente os rendimentos de **41**.

No anexo (p.103) encontra-se o espectro de MALDI-TOF da porfirina **41**, onde é possível observar o pico principal referente ao íon molecular com m/z 761 acompanhado de íons representando o ganho (m/z 789) e a perda de monóxido de carbono (m/z 733).

5 CONCLUSÃO

O objetivo principal deste trabalho consistiu na obtenção sintética de uma porfirina contendo porções glicídicas cationizadas (**42**). Este objetivo foi alcançado através de uma rota de síntese iniciada com um carboidrato aminado (glucosamina **33**). Adicionalmente, através de síntese regioseletiva *via* acetal de dibutilestanileno, foi obtido um glicoaldeído peracetilado, protegido na forma de dietilditioacetal, contendo o radical piridin-4-il metila (**29**), o qual pode servir para a síntese de novas glicoporfirinas catiônicas.

Na rota sintética destinada a obtenção da porfirina (**42**) foi necessária a inserção de várias alterações em métodos tradicionalmente empregados para cumprimento da maioria das etapas. Devido ao fato de o material inicial de síntese ser um açúcar aminado, as condições para a obtenção tanto de alguns dos compostos já descritos na literatura (**34,35 e 37**) quanto para os inéditos (**38 e 39**) foram estudadas em detalhes, visando otimização. A síntese do composto **37**, já descrito na literatura, foi alcançada com um rendimento global de 70% em duas etapas, sem utilizar alguns reagentes tóxicos tradicionalmente empregados. Já no caso do dipirrometano inédito **39**, as melhores condições de reação encontradas apresentaram muito mais brandas do que aquelas empregadas para a obtenção de compostos relacionados.

Ao final do presente trabalho, seis novas moléculas foram obtidas: compostos **28, 29, 39, 40, 41 e 42**.

Tais moléculas contribuirão em futuras investigações envolvendo novos fotossensibilizadores tanto em PDI quanto em PDT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, C.M.A., *et al.* Site-Specific and stoichiometric conjugation of cationic porphyrins to antiangiogenic monoclonal antibodies. **Bioconjugate Chemistry**, Califórnia, v.21, p. 302-313, 2010.

ALVES, E. *et al.* Charge effect on the photoinactivation of gram-negative and gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins. **BMC Microbiology**, London, v.9, n. 70, p. 1-13, 2009.

AKSENOVA, A. A.; SEBYAKIN, Y.L.; MIRONOV, A. F. Conjugates of porphyrins with carbohydrates. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, Moscow, v.20, n. 3, p. 201-219, 2003.

ARUNKUMAR, C.; BHYRAPPA, P.; VARGHESE, B. Synthesis and axial ligation behaviour of sterically hindered Zn(II)-porphyrin liquid crystals. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 47, p. 8033-8037, 2006.

ASANAKA, M. *et al.* Anti-HIV activity of protoporphyrin. **AIDS**, London, v. 3, p. 403-404, 1989.

ASHKENAZI, H., *et al.* Eradication of *Propionibacterium acnes* by its endogenic porphyrins after illumination with high intensity blue light. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 35, p. 17-24, 2003.

BONNET, R. Nomenclature. In: Dolphin, D. **The porphyrins**. Nova Iorque: Academic Press, 1978. p. 2-30.

BONNET, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. **Chemical Society Reviews**, London, v. 24, p. 19-33, 1995.

CALVETE, M. J. F.; GOMES, A. T. P. C.; MOURA, N. M. M.; Clorinas em terapia fotodinâmica – síntese e aplicações. **Revista Virtual de Química**, Aveiro, v.1, n.2, p. 92-103, 2009.

CARRÉ, V. *et al.* Fungicidal properties of *meso*-aryl glycosylporphyrins: influence of sugar substituents on photoinduced damage in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 48, p. 57-62, 1999.

CASIRAGHI, G., *et al.* Synthesis and characterization of porphyrin-sugar carbon conjugates. **Journal Organic Chemistry**, Utah, v.59, p. 1801-1808, 1994.

CAVALEIRO, J. A. S.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F.; Synthesis of glycoporphyrins. In: GUPTA, R. R. **Topics Heterocyclic Chemistry**. Berlin: Springer, 2007, p. 179-248.

CHEN, X. *et al.* Efficient synthesis and photodynamic activity of porphyrin-saccharide conjugates: Targeting and incapacitating cancer cells. **Biochemistry**, Nashville, v. 43, p.10918-10929, 2004.

CORNIA, M. *et al.* Synthesis, characterisation and conformational studies of lipophilic, amphiphilic and water-soluble C-glyco-conjugated porphyrins. **Tetrahedron**, Oxford, v. 54, p. 8091-8106, 1998.

CORNICK, M. P. *et al.* Photodynamic inactivation of *Candida albicans* sensitized by tri- and tetra- cationic porphyrin derivatives. **European Journal of Medical Chemistry**, Paris, v. 44, p. 1592-1599, 2009.

COSTA, L. *et al.* Sewage bacteriophage photoinactivation by cationic porphyrins: a study of charge effect. **Photochemistry & Photobiology Sciences**. Korean, v. 7, p. 415-422, 2008.

DEROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 233- 234, p. 351-371, 2002.

DRIAF, K. *et al.* Synthesis of glycosylated cationic porphyrins as potential agents in photodynamic therapy. **Canadian Journal Chemistry**, Ottawa, v. 74, p. 1550 -1563, 1996.

DUCATTI; D. R. B. **Hidrólise ácida de galactanas para produção de oligossacarídeos e C-glicosídeos: semi-síntese de N-álquil e C-dihidropiridina glicosídeos**. 192f. Tese (Doutorado em Ciências - Bioquímica). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

DUCATTI; D. R. B. *et al.* Production of carbohydrate building blocks from red seaweed polysaccharides. Efficient conversion of galactans into C-glycosyl aldehydes. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v.7, p. 576-588, 2009a.

DUCATTI; D. R. B. *et al.* Dihydropyridine C-glycoconjugates by organocatalytic Hantzsch cyclocondensation. Stereoselective synthesis of α -threofuranose C-nucleoside enantiomers. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 7, p.1980-1986, 2009b.

FRIEDBERG, J. S. *et al.* In vitro effects of photodynamic therapy on *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 48, p. 105-107, 2001.

GAO, H.; KELLY, M.; HAMANN, M.T. Bromotyrosine-derived metabolites from the Sponge *Aiolochoia crassa*. **Tetrahedron**, Oxford, v.55, p. 9717-9726, 1999.

GOMES, M.C. *et al.* Photodynamic inactivation of *Penicillium chrysogenum* conidia by cationic porphyrins. **Photochemical & Photobiological Science**, Korean, v.10, p. 1735-1743, 2011.

GONÇALVES, A. G. **Modificações químicas em oligossacarídeos derivados de polissacarídeos de algas marinhas**. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

GONÇALVES, A.G. *et al.* Semi-synthesis of 3-O-sulfated red seaweed galactan – derived disaccharide alditol. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 341,p. 1753-1757, 2006.

GONÇALVES, A. G.; *et al.* Semisynthesis of long-chain alkyl ether derivatives of sulfated oligosaccharides via dibutylstannylene acetal intermediates. **Journal Organic Chemistry**, Utah, v. 72, p. 9896-9904, 2007.

GONSALVES, A. M. d'A. R.; VAREJÃO, J. M. T. B.; PEREIRA, M. M. Some new aspects related to the synthesis of *meso*-substituted porphyrins. **Journal Heterocyclic Chemistry**, Albuquerque, v. 28, p. 635-640, 1991.

HAMBLIN, M. R., *et al.* Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 49, p. 941-951, 2002.

HENRIQUES, C.A.S. **Síntese de meso-porfirinas mistas. Estudos fotofísicos e térmicos**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade de Coimbra, 2011.

HIRASE, S.; ARAKI, C. Studies on the chemical constitution of agar-agar. XVI. Isolation of crystalline agarobiose diethylmercaptal by mercaptolysis of agar-agar. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, Tokio, v. 27, p. 105-109, 1954.

HOUGH, L.; TAYA, M.I. The Disulphones derived by oxidation of 2-amino-2-deoxy-D-glucose diethyl dithioacetal hydrochloride and its *N*-acetyl derivative with peroxypropionic acid. **Journal of the Chemistry Society**, Cambridge, v.0, p. 3564-3572, 1957.

HUDSON, R.; SAVOIE, H.; BOYLE, R. W. Lipophilic cationic porphyrins as photodynamic sensitizers – synthesis and structure – activity relationships. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 2, p. 193-196, 2005.

ITOH, Y. *et al.* Photodynamic therapy of acne vulgaris with topical δ -aminolaevulinic acid and incoherent light in Japanese patients. **British Journal Dermatology**, Oxford, v. 144, p. 575-579, 2001.

JIA, T. *et al.* Binding and photocleavage of cationic porphyrin – phenyl piperazine hybrids to DNA. **Biophysical Chemistry**, Amsterdam, v. 119, p. 295–302, 2006.

JIAO, L. **Synthesis and functionalizations of tetrapyrrole derivatives**. Tese (Doutorado em Filosofia- Química). Shandong University, China, 2007.

KOMATSU, T. *et al.* O₂ and CO binding properties of artificial hemoproteins formed by complexing iron protoporphyrin IX with human serum albumin mutants. **Journal American Chemistry Society**, Easton, v. 127, p.15933-15942, 2005.

KUSMANN, J. 1,4-Diamino-1,4-dideoxy-D-galactitol and 1,5-diamino-1,5-dideoxy-L-altritol. **Carbohydrate research**, Amsterdam, v. 156, p. 25-37, 1986.

LAMBRECHTS, S.,A.,G; AALDERS, M., C., G.; MARLE, J. V. Mechanistic study of the photodynamic inactivation of *Candida albicans* by a cationic porphyrin. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, Bethesda, v.49, p.2026–2034, 2005.

LAMBRECHTS, S.A.G. *et al.* Effect of albumin on the photodynamic inactivation of microorganisms by a cationic porphyrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 79, p. 51-57, 2005.

LAZZERI, D.; DURANTINI, E.N. Synthesis of meso-substituted cationic porphyrins as potential photodynamic agents. **Arkivoc**, Michigan, p. 227-239, 2003.

LEE, S. J.; HUPP J. T. Porphyrin- cointaining molecular squares: design and applications. **Coordenation Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 250, p. 1710-1723, 2006.

LÓ, S.M.; **Síntese de porfirinas e glicoporfirinas: utilização do dióxido de selênio (SeO₂) como agente oxidante**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

LÓ, S.M. *et al.* Synthesis of meso-tetraarylporphyrins using SeO₂ as oxidant. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 52, p. 1441-1443, 2011.

LINDSEY, J. S. *et al.* Rothemund and Adler-Longo reactions revisited: synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions. **Journal Organic Chemistry**, Washington, v. 52, p. 827-836, 1987.

MERCHAT, M. *et al.* Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of gram-positive and gram-negative bacteria. **Journal Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 32, p. 153-157, 1996.

MIYOSHI, N. *et al.* In light of recent developments, application of fluorescence spectral analysis in tumor diagnosis. **Applied Spectroscopy Reviews**, New York, v. 39, p. 437-455, 2004.

MURAKAMI, Y. *et al.* Artificial enzymes. **Chemical Reviews**, Washington, v. 96, p. 721-758, 1996.

OGAWA, S. *et al.* Chemistry of the neomycins. XIII. synthesis of aminocyclitols and amino sugars *via* nitromethane condensations. **Journal Organic Chemistry**, Washington, v.39, n.6, p. 812-822, 1974.

PAPAZOGLU, T. G. Malignancies and atherosclerotic plaque diagnosis-is laser induced fluorescence spectroscopy the ultimate solution? **Journal Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, Lausanne, v. 28, p. 3-11, 1995.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W.L.F. **Purification of Laboratory Chemicals**. 4.ed, Austrália: Pergamon Press, 1996.

PURRELLO, R.; GURRIERI S.; LAUCERI R. Porphyrin assemblies as chemical sensors. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 190-192, p. 683-706, 1999.

REBEIZ, C. A. *et al.* Porphyrinic insecticides: 2. 1,10- phenanthroline, a potent porphyrinic insecticide modulator. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 36, p. 201-207, 1990.

RIBEIRO, J. N. *et al.* Avaliação da atividade fotodinâmica de porfirinas para uso em terapia fotodinâmica através da fotoxidação de triptofano. **Eclética Química**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 7-14, 2007.

RONSON, T. K. *et al.* Tripodal 4-pyridyl-derived host ligands and their metallo-supramolecular chemistry: stella octangula and bowl-shaped assemblies. **Inorganic Chemistry**. Rochester, v.49, p.675-685, 2010.

ROTHERMUND, P. A new porphyrin synthesis. The synthesis of porphyrin. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 58, p. 625-627, 1936.

SHARGHI, H.; NEJAD, A.H. Novel synthesis of *meso*-tetraarylporphyrins using $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ under aerobic oxidation. **Tetrahedron**, Oxford, v.60, p. 1863-1868, 2004.

SIMONNEAUX, G. *et al.* Asymmetric heterogeneous catalysis by metalloporphyrins. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 250, p. 2212- 2221, 2006.

SMIJS, T. G. M. *et al.* Photodynamic treatment of the dermatophyte *Trichophyton rubrum* and *Microconidia* with porphyrin photosensitizers. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 80, p. 197-202, 2004.

SMITH, K.M. Porphyrins and metalloporphyrins. In: SMITH, K.M. Amsterdã: Editora Elsevier, p. 1-25, 1975.

SOL, V. *et al.* Glycosyl bis-porphyrin conjugates: synthesis and potential application in PDT. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 14, p. 7745-7760, 2006.

STILL, W.C.; KAHN, M.; MITRA, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. **Journal Organic Chemistry**, Washington, v.43, p. 2923-2925, 1978.

TOMÉ, J. P. C. *et al.* Synthesis of glycoporphyrin derivatives and their antiviral activity against herpes simplex virus types 1 and 2. **Bioorganic & Medical Chemistry**, Oxford, v. 13, p. 3878-3888, 2005.

TOMÉ, J. P. C. *et al.* Synthesis of neutral and cationic tripyridyl porphyrin DD – galactose conjugates and the photoinactivation of HSV. **Bioorganic & Medical Chemistry**, Oxford, v.15, p. 4705–4713, 2007.

TRANNOY, L. L. *et al.* Positively charged porphyrins: a new series of photosensitizers for sterilization of RBCs. **Transfusion**, Malden, v. 44, p. 1186-1196, 2004.

VZOROV, A. N. *et al.* Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by porphyrins. **Antimicrobial Agent and Chemotherapy**, Bethesda, v. 46, p. 3917-3925, 2002.

YAMAGUCHI, T. *et al.* Sulfonylation-induced *N*- to *O*-acetyl migration in 2-acetamido ethanol derivatives. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 75, p. 3515-3517, 2010.

YAMAMOTO, H. *et al.* Photodynamic therapy for cancers. **Current Science**. Bangalore, v. 77, p. 894- 906, 1999.

WANG, Q. M.; BRUCE, D. W. Synthesis of calamitic liquid crystalline porphyrins with lateral aromatic branches. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 37, p. 7641-7644, 1996.

WOJTYK, L.T.C. *et al.* Exploiting tumour biology to develop novel delivery strategies for PDT. **Medical Laser Application**, Jena, v. 21, p. 225-238, 2006.

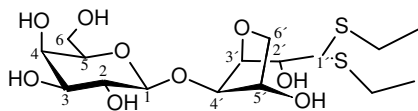
WOLFROM, M. L. ANNO, K. Acetylated thioacetals of D-glucosamine. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 74, p.6150-6151, 1952.

WOLFROM, M. L.; SUGIHARA, J. M. Carbohydrate chemistry. **Annual review of biochemistry**, Palo Alto, v.19, p. 67-88, 1950.

ZHENG, X.; PANDEY, R. Q. Anti -cancer agents. **Medicinal Chemistry**, Cambridge, v. 8, p. 241-268, 2008.

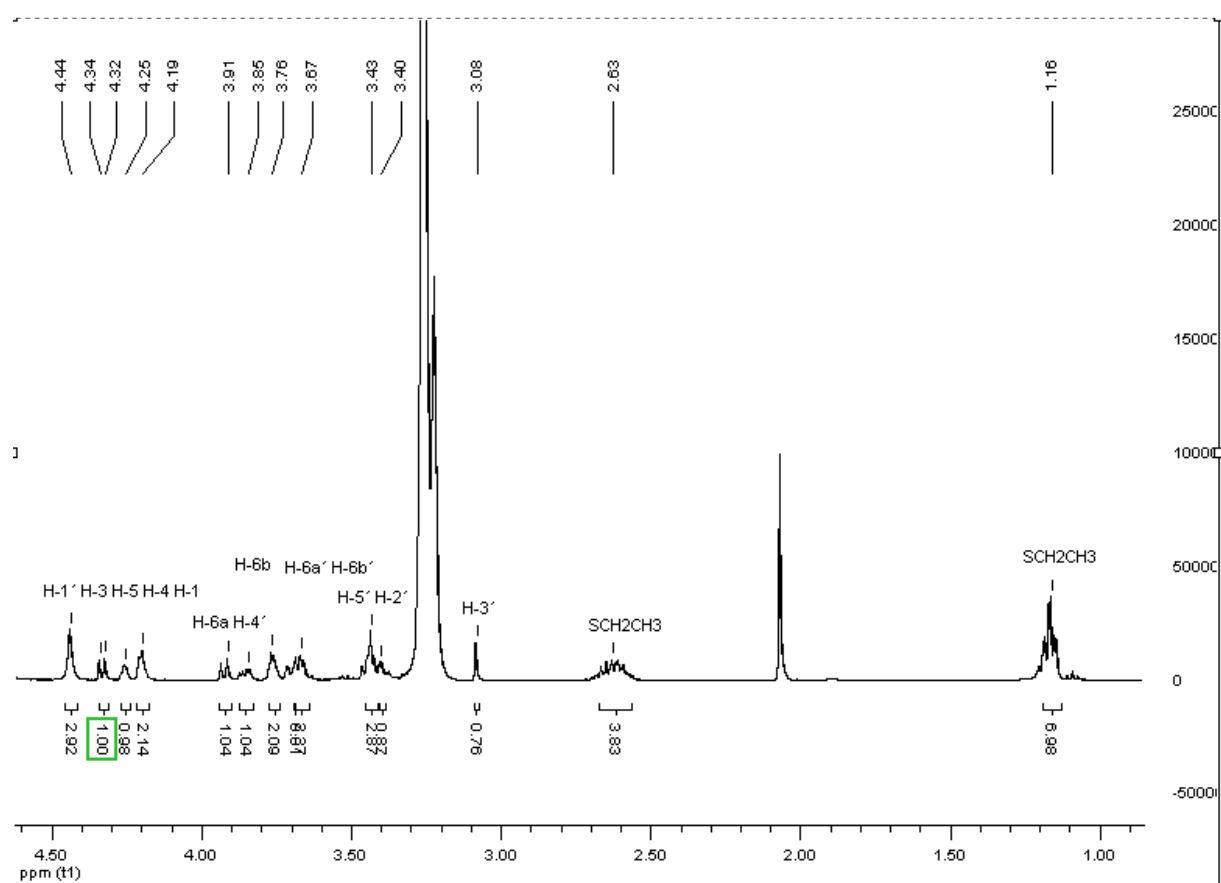
ANEXOS

Composto **26**: β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal

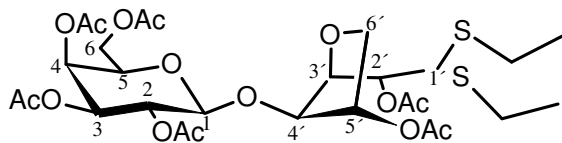


- Líquido viscoso amarelo ($R_f=0,16$ cm, *acetato de etila: metanol*, 7:1)

RMN¹H do composto **26**, CD₃OD, 30°C, 400 MHz

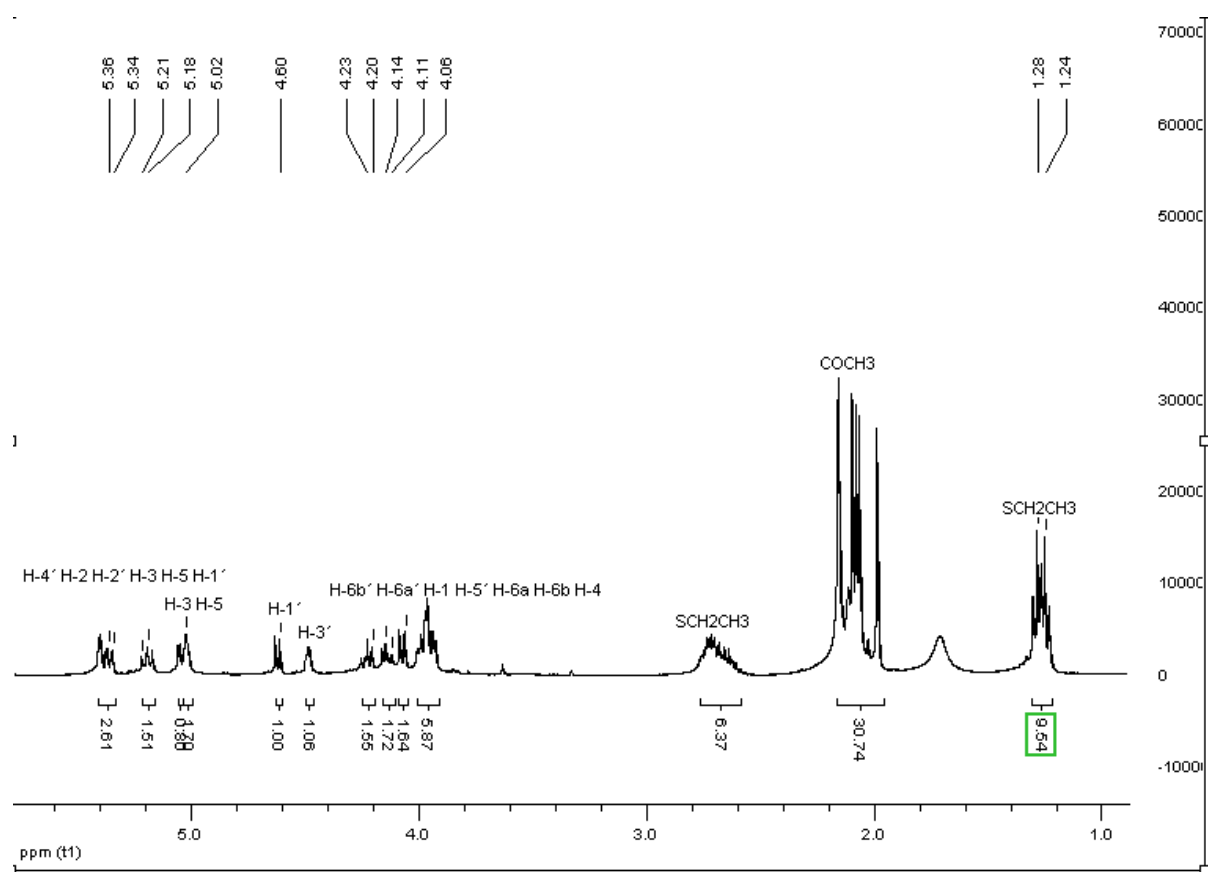


Composto **27**: 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-*O*-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetil

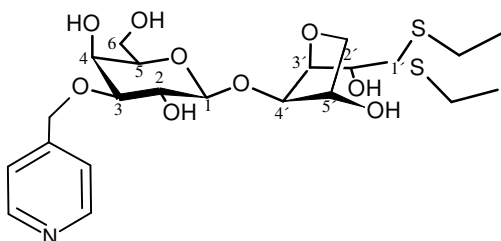


- Cristal bege ($R_f = 0,28$ cm, *acetato de etila:ciclo-hexano 1:1*)

RMN ^1H do composto **27**, CDCl_3 , 30°C , 400 MHz

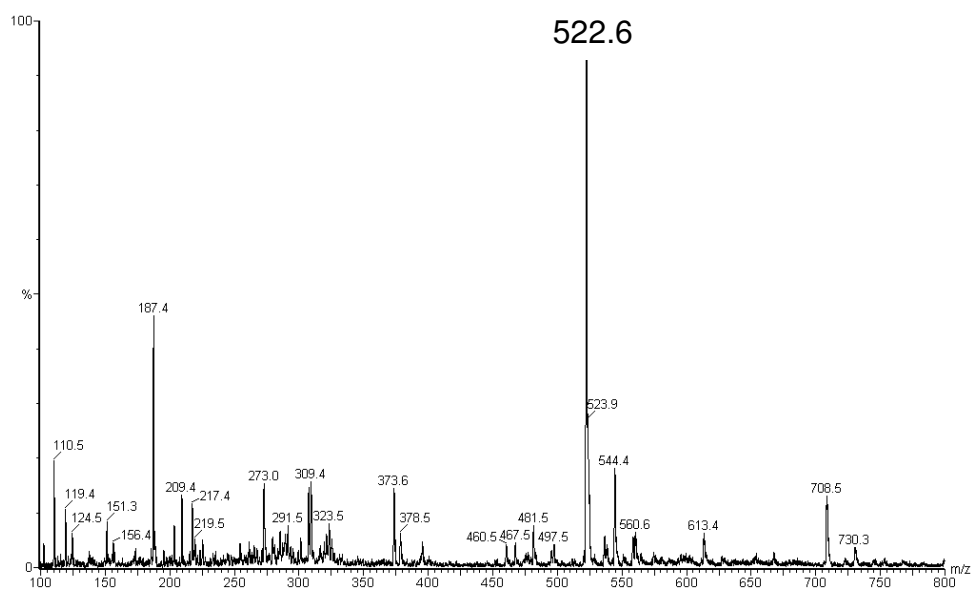


Composto **28**: 3-*O*-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal

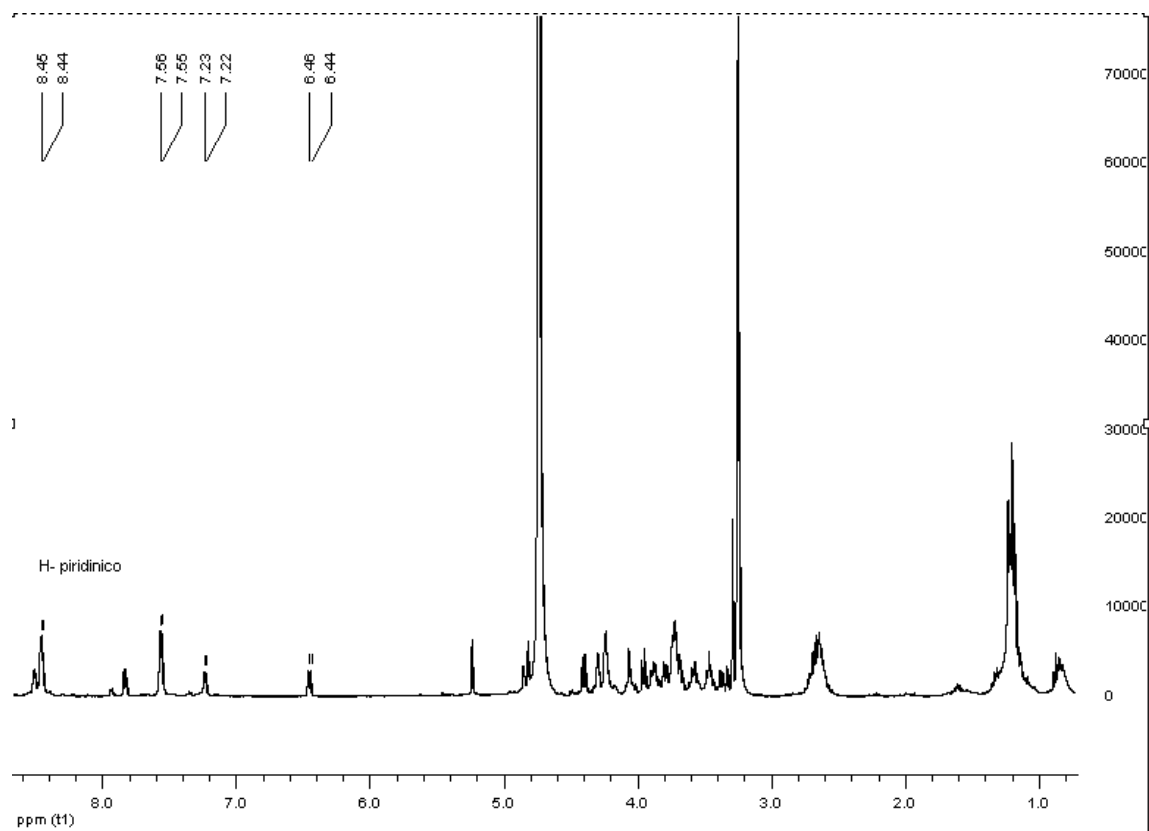


- Sólido bege (R_f = 0,28 cm, *clorofórmio:metanol:hidróxido de amônio* 28:6:1)

ESIMS do composto **28**

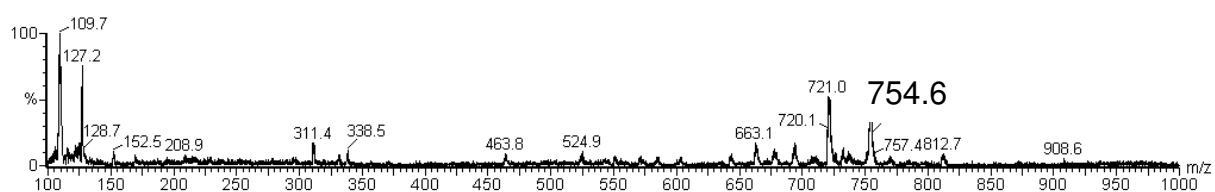
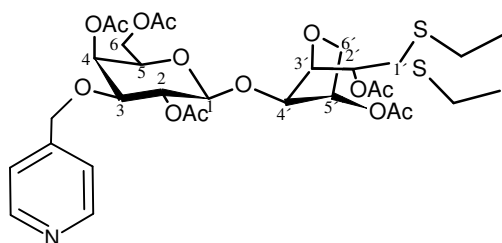


RMN ^1H do composto **28**, CDCl_3 , 30°C , 400 MHz

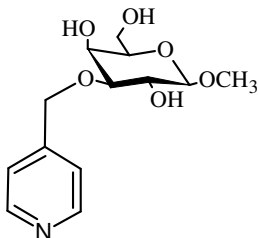


Composto **29**: 2,4,6-Tri-*O*-acetil-3-*O*-(piridin-4-il-metil)- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-2,5-di-*O*-acetil-3,6-anidro-L-galactose dietilditioacetal

ESIMS do composto **29**

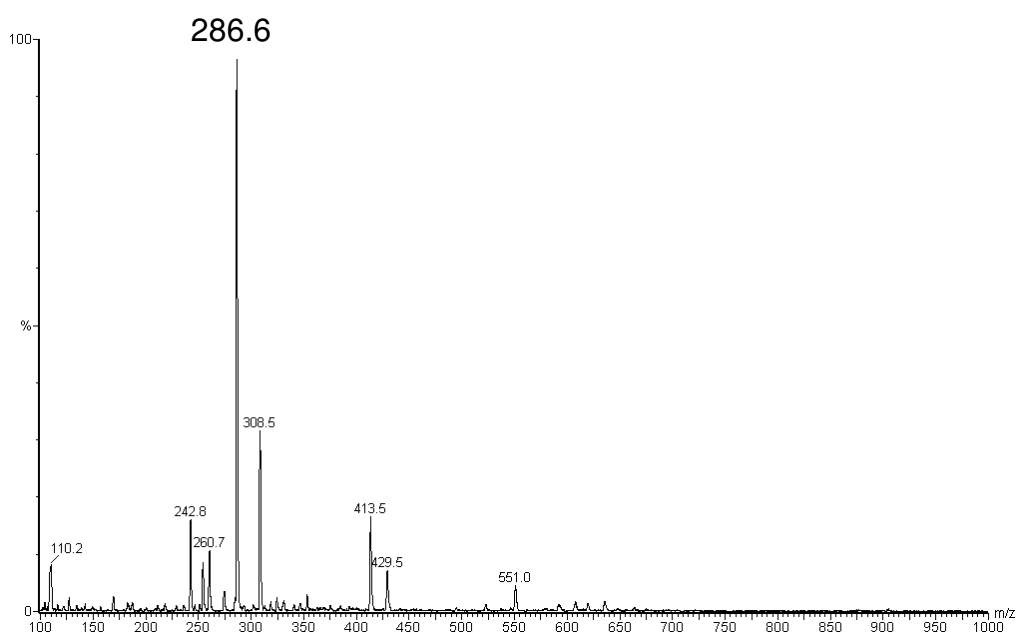


Composto **31**: 3-*O*-(piridin-4il-metil) β -D-galactopiranosídeo de metila

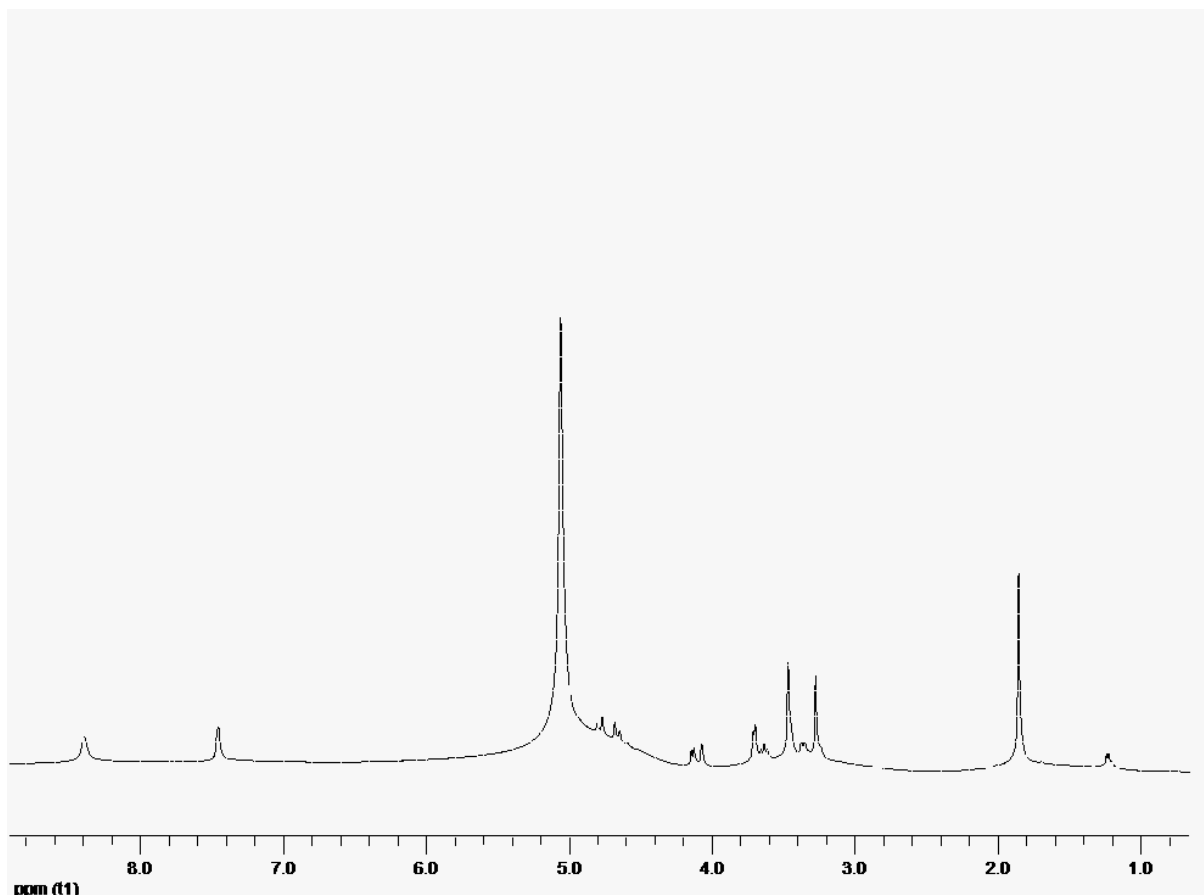


- Líquido viscoso amarelo

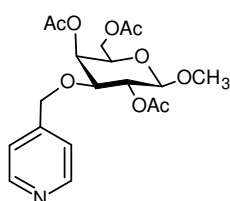
ESIMS do composto **31**



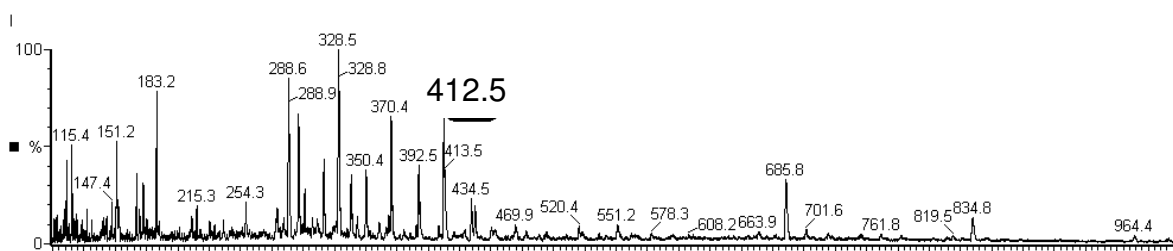
RMN¹H do composto **31**, CDOD₃, 30°C, 400 MHz

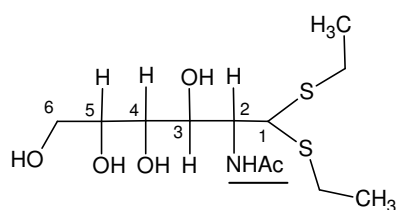


Composto **32**: 2,4,6-Tri-*O*-acetil-3-*O*-(piridin-4-il-metil)-β-D-galactopiranosídeo de metila

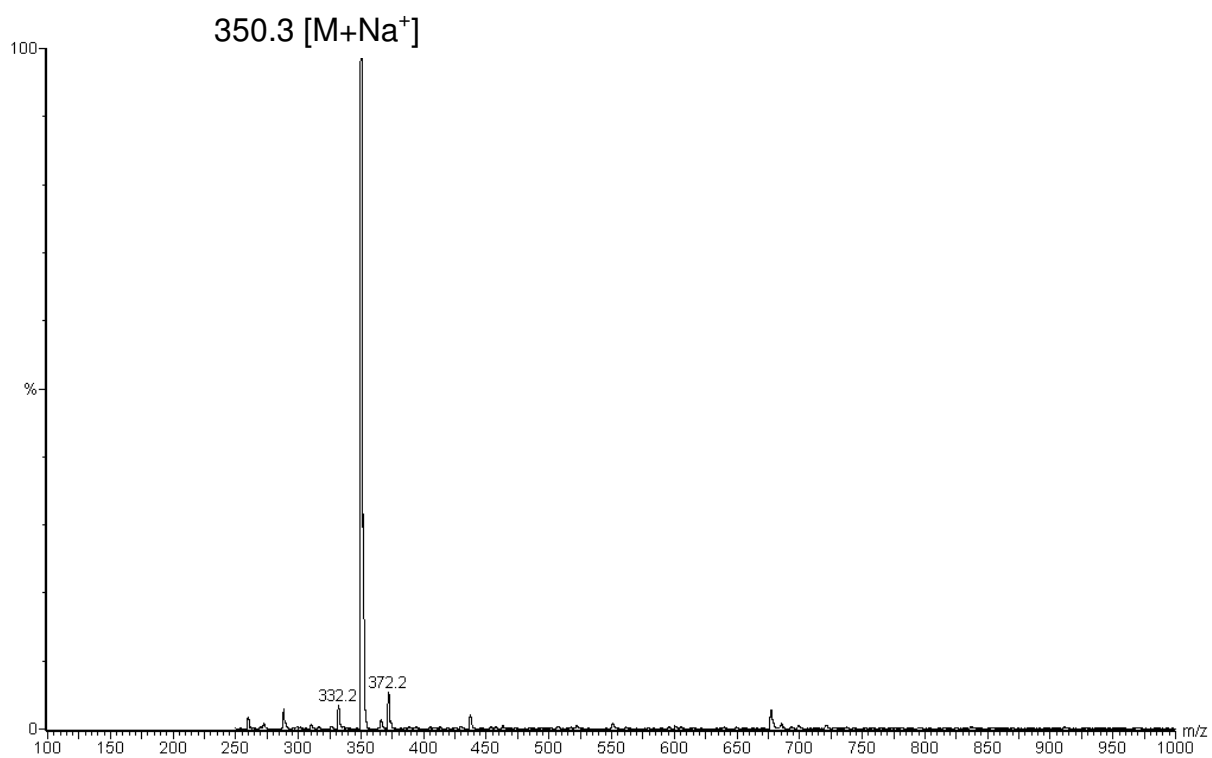


ESIMS do composto **32**

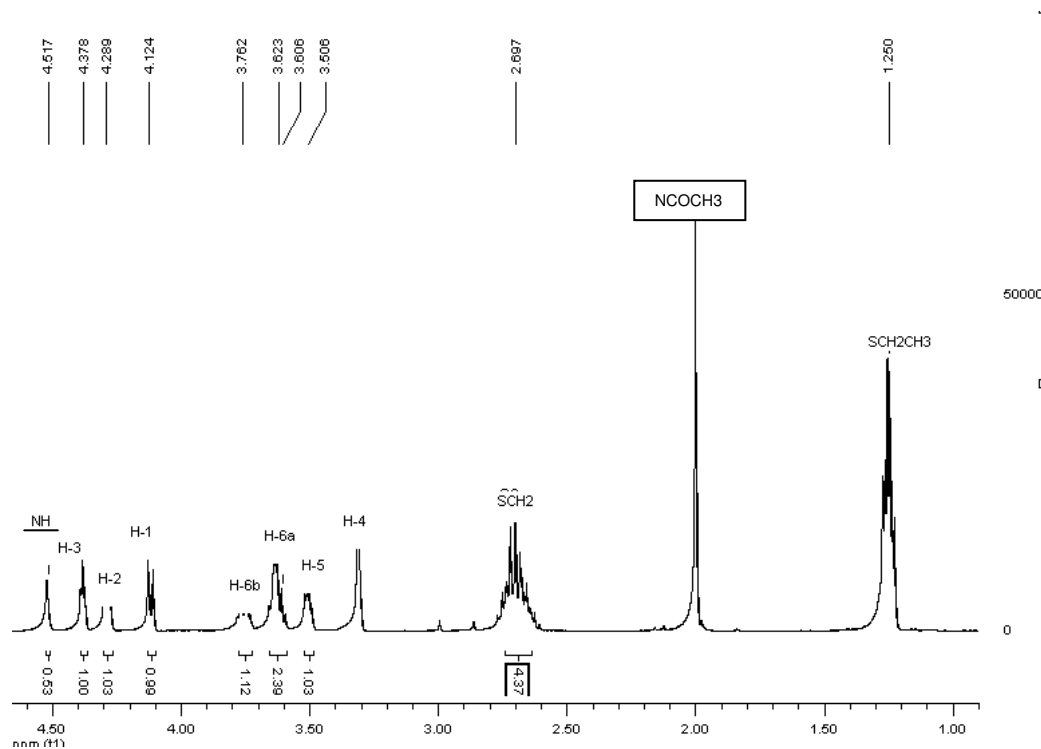


Composto 35: 2-acetamido-2-desoxi-D-glucose dietilditioacetal

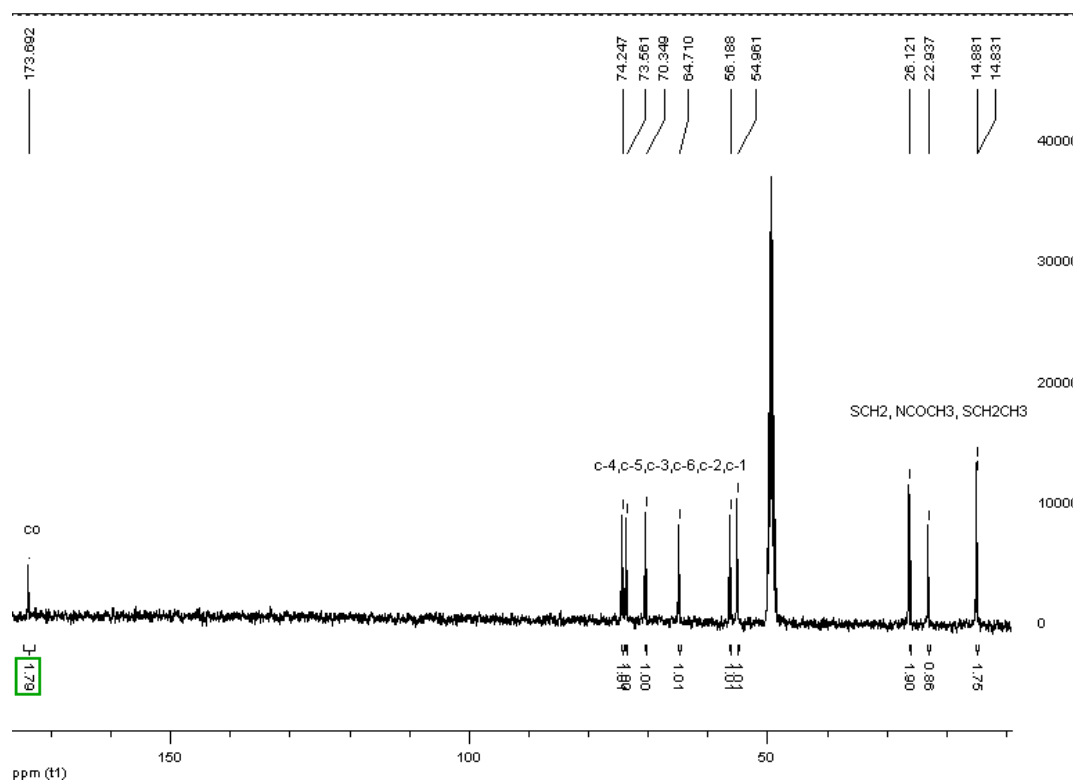
- Cristais brancos transparentes agulhados a partir de clorofórmio e éter etílico.

ESIMS do composto 35

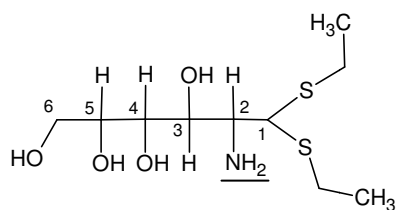
RMN ^1H do composto **35**, CD_3OD , 30°C , 400 MHz.



RMN ^{13}C do composto **35**, CD_3OD , 30°C , 400 MHz.

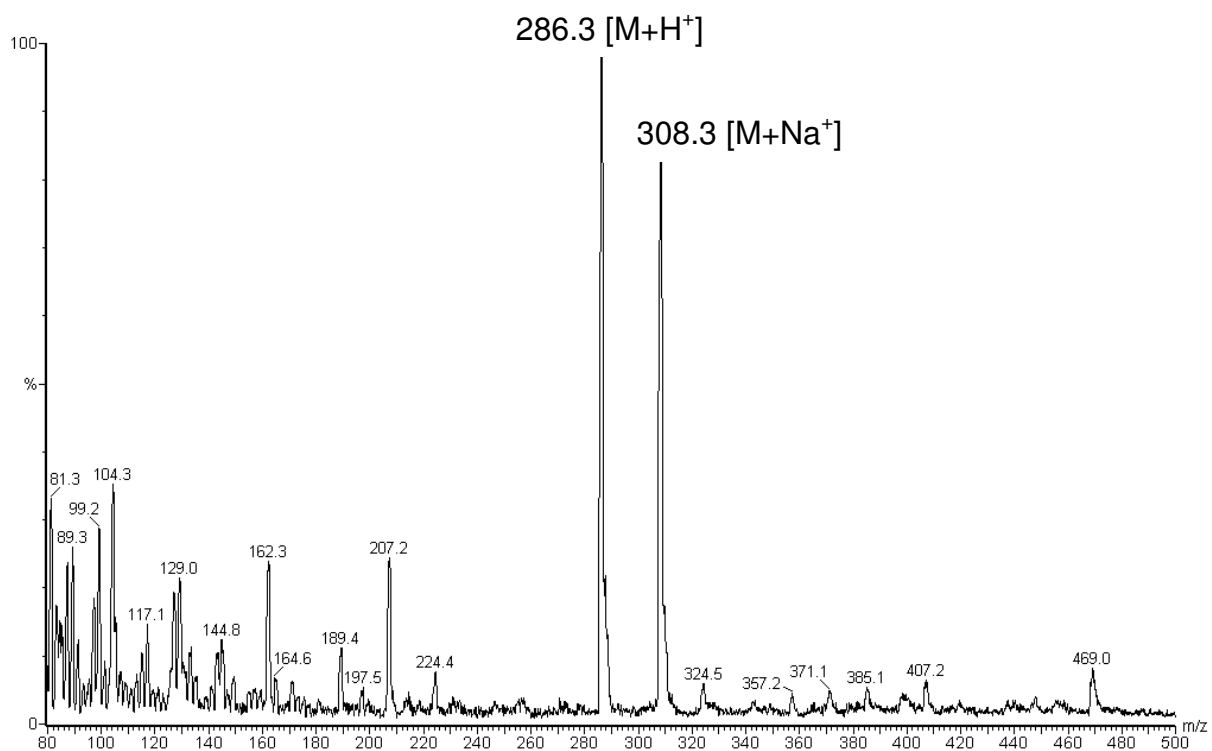


Composto **36**: 2-amino-2-desoxi-D-glucose dietilditioacetal:

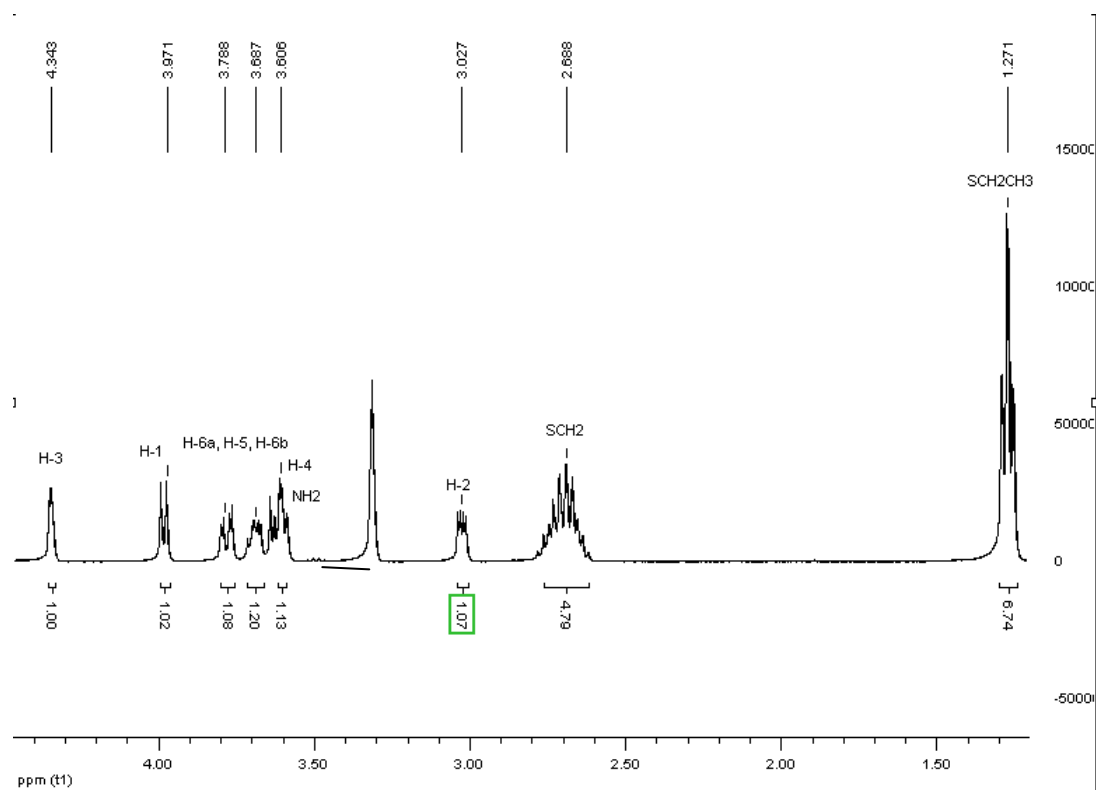


- Material sólido branco a partir de éter ($R_f = 0,16$ cm, *clorofórmio:isopropanol:hidróxido de amônio 8:6:1*)

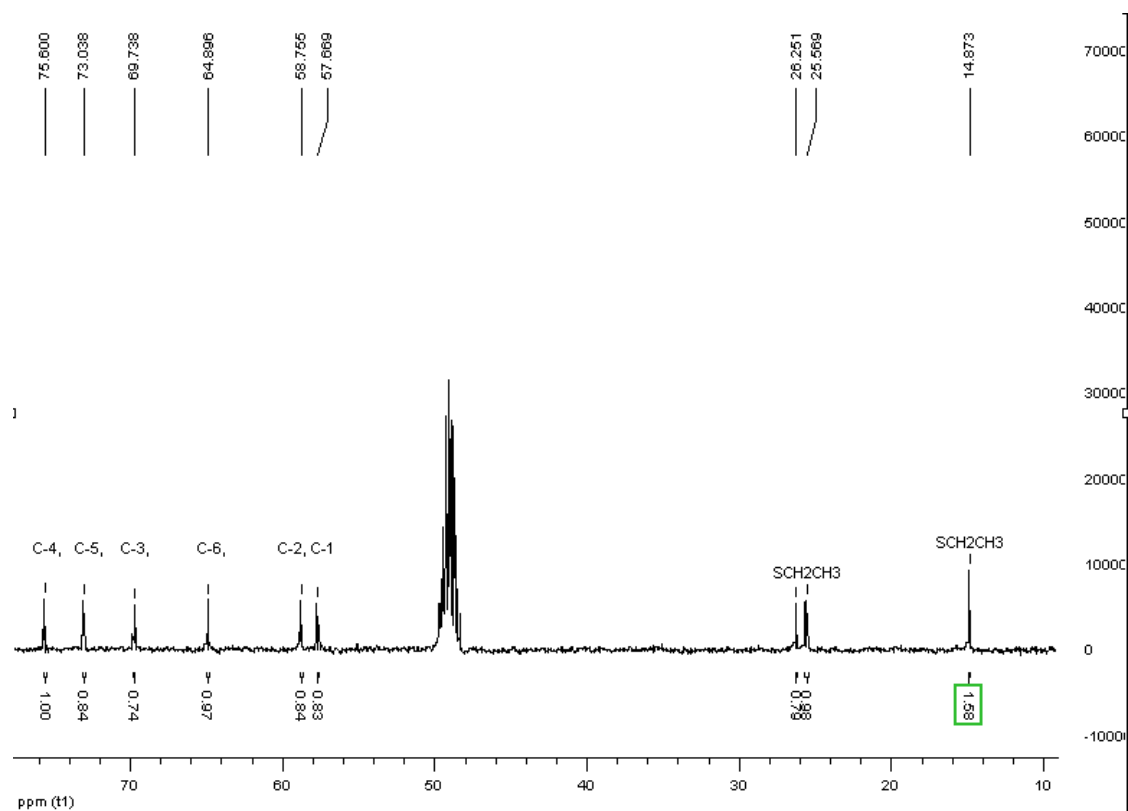
ESIMS do composto **36**



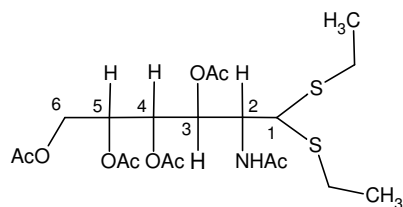
RMN ^1H do composto **36**, CD_3OD , 30°C , 400 MHz.



RMN ^{13}C do composto **36**, CD_3OD , 30°C , 400MHz

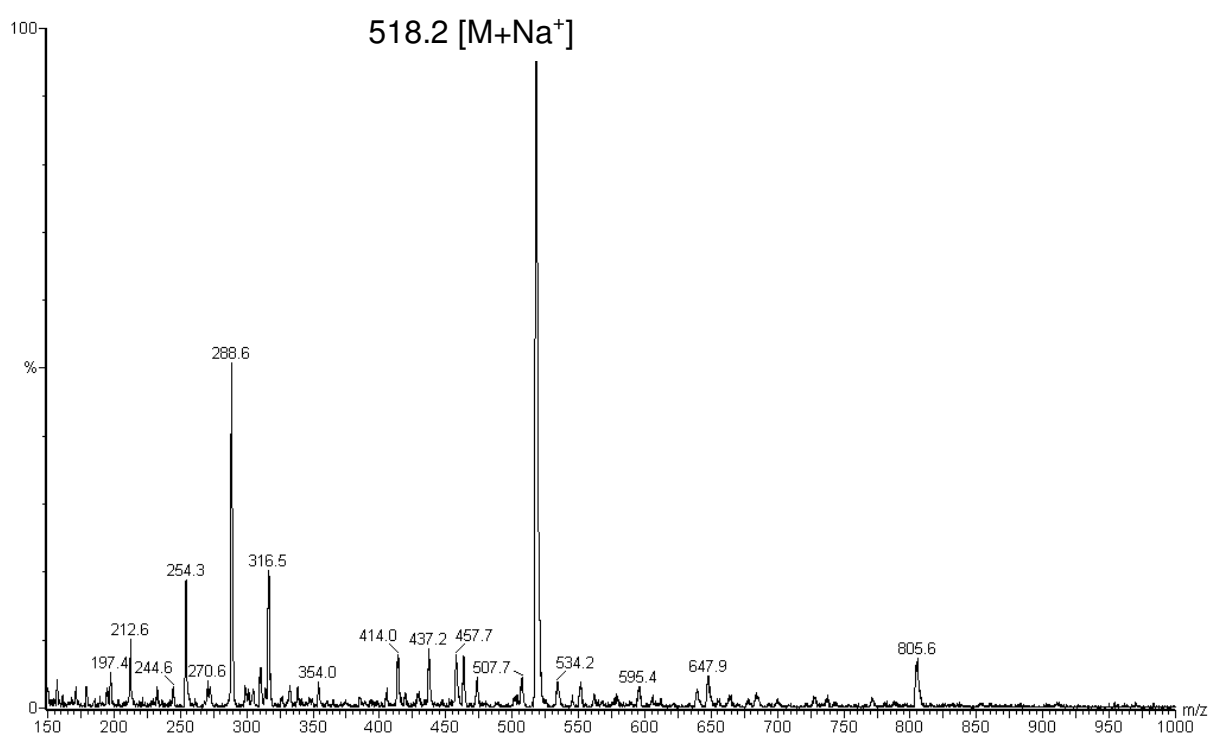


Composto **37**: 3,4,5,6-tetra-*O*-acetil-2-acetamido-2-desoxi-D-glucose dietilditioacetal

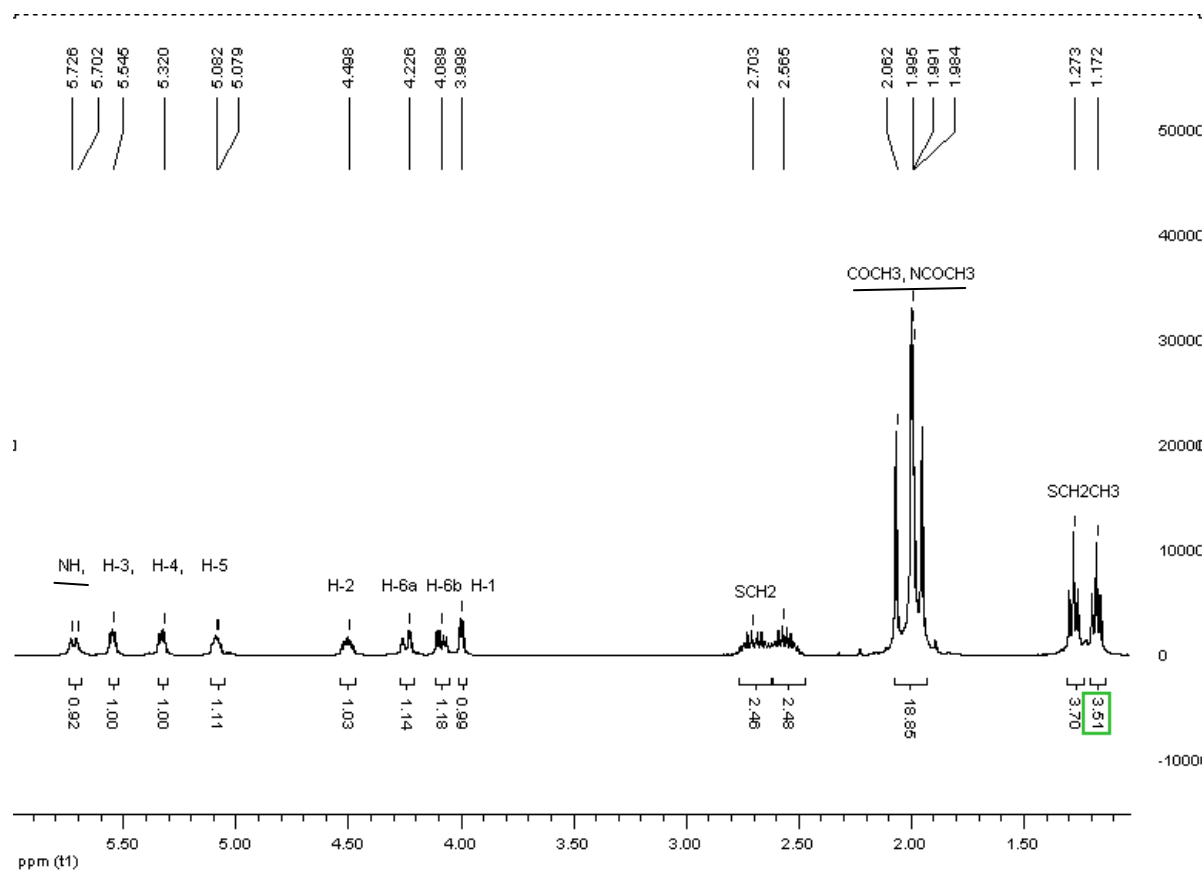


- Líquido viscoso amarelado ($R_f = 0,33$ cm, *acetato de etila:ciclo-hexano 1:1*)

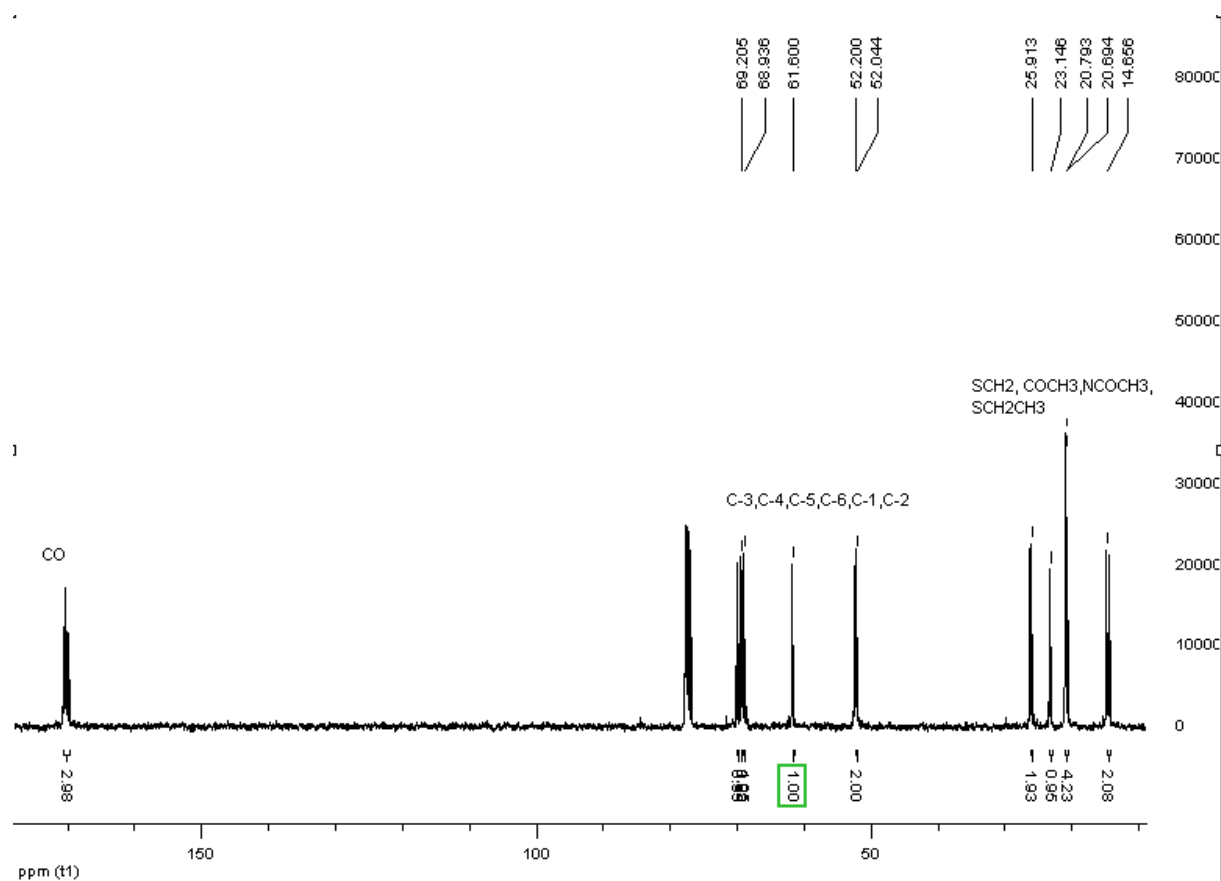
ESIMS do composto **37**



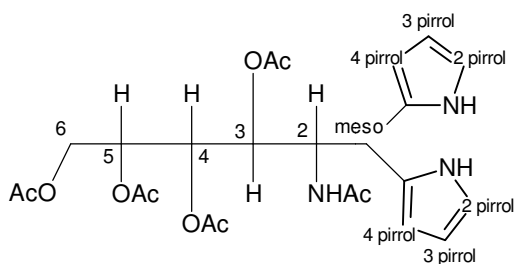
RMN ^1H do composto **37**, CDCl_3 , 30°C , 400 MHz



RMN ^{13}C do composto **37**, CDCl_3 , 30°C , 400 MHz

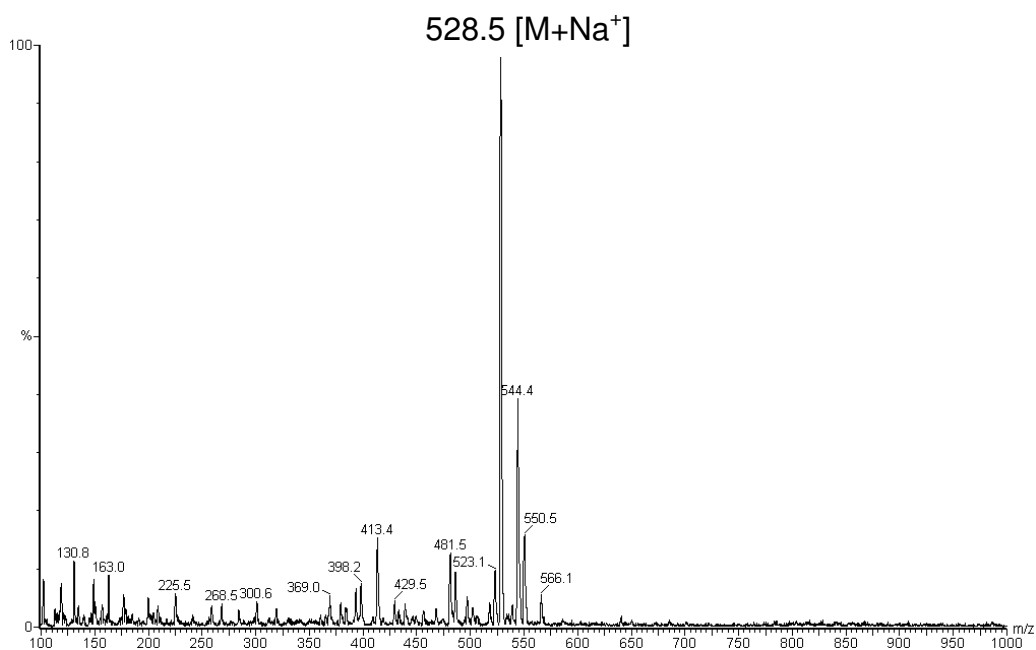


Composto **39**: 3,4,5,6-Tetra-*O*-acetil-2-acetamido-1,2-didesoxi-1,1-dipirril-D-glucocitol

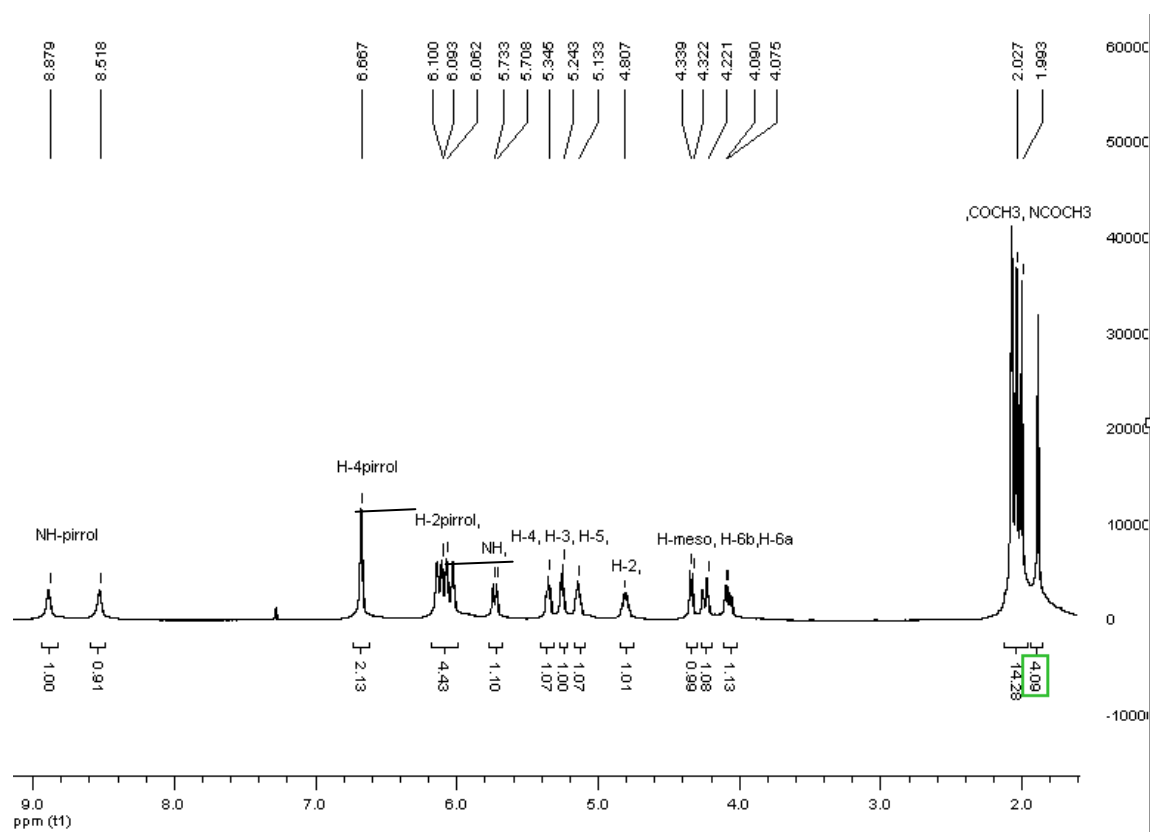


- Material sólido marrom a partir de hexano ($R_f = 0,20$ cm, *Hexano: isopropanol* 10:2)

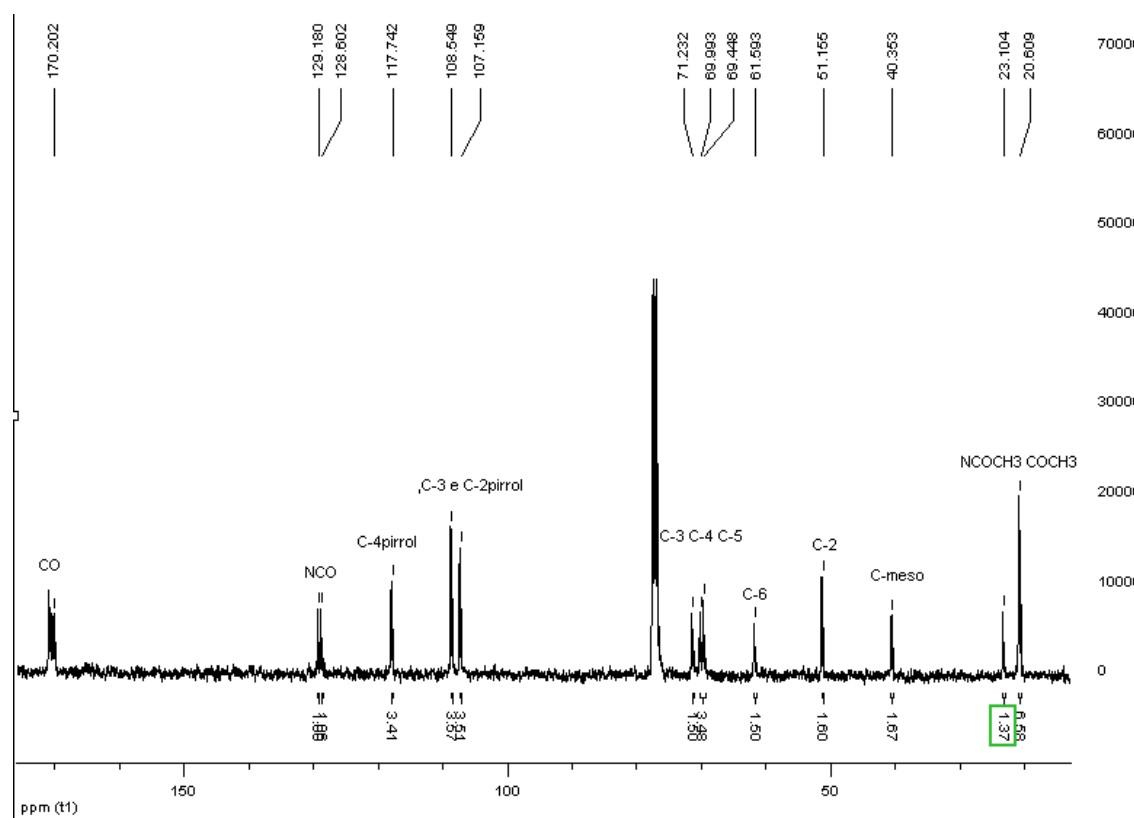
ESIMS do composto **39**



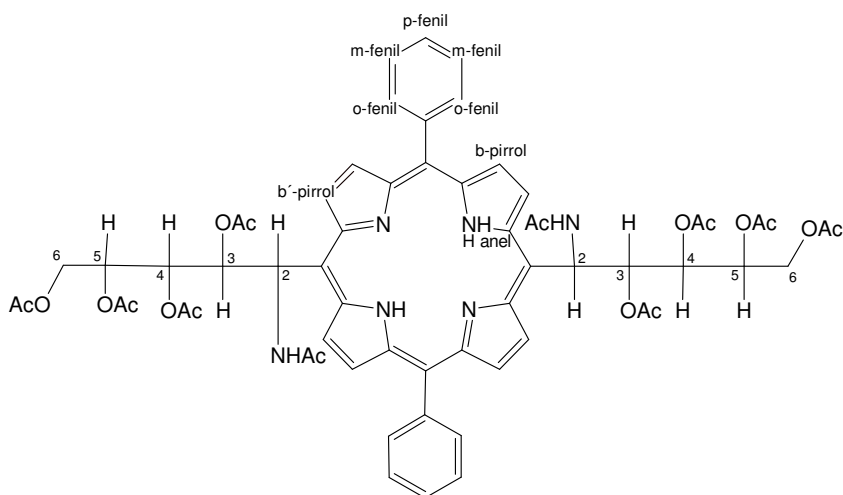
RMN ^1H do composto **39**, CDCl_3 , 30°C , 400 MHz



RMN ^{13}C do composto **39**, CDCl_3 , 30°C , 400 MHz

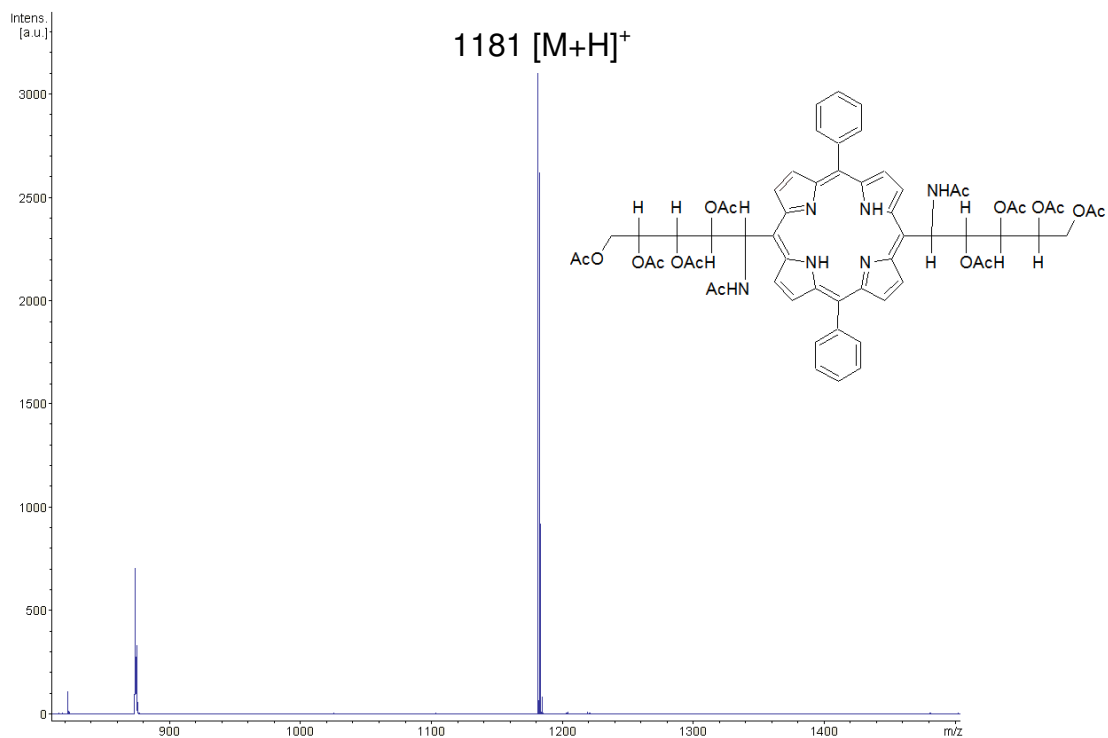


Composto **40**: 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-3,4,5,6-tetra-*O*-acetil-2-acetamido-2-desoxi-D-glucitol]porfirina

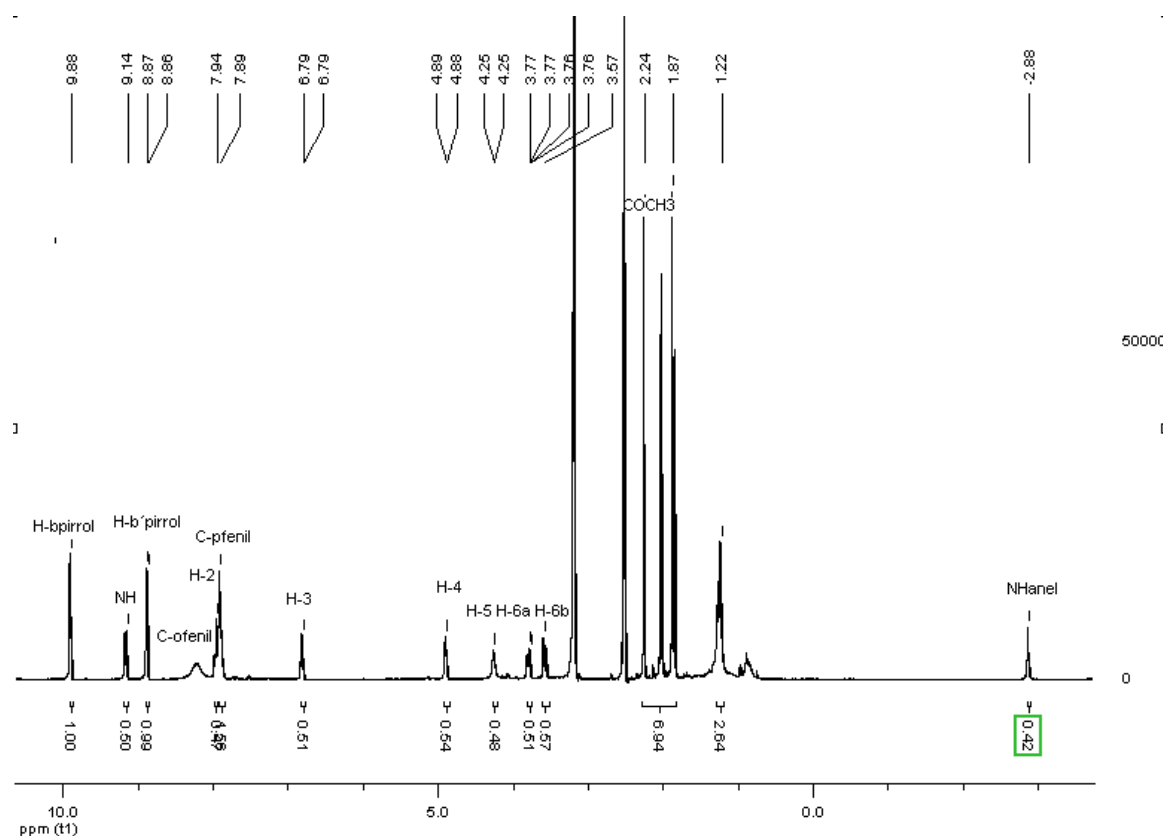


- Material sólido púrpura a partir de DMSO, acetato de etila e água ($R_f = 0,23$ cm, *acetato de etila: diclorometano 1:1*)

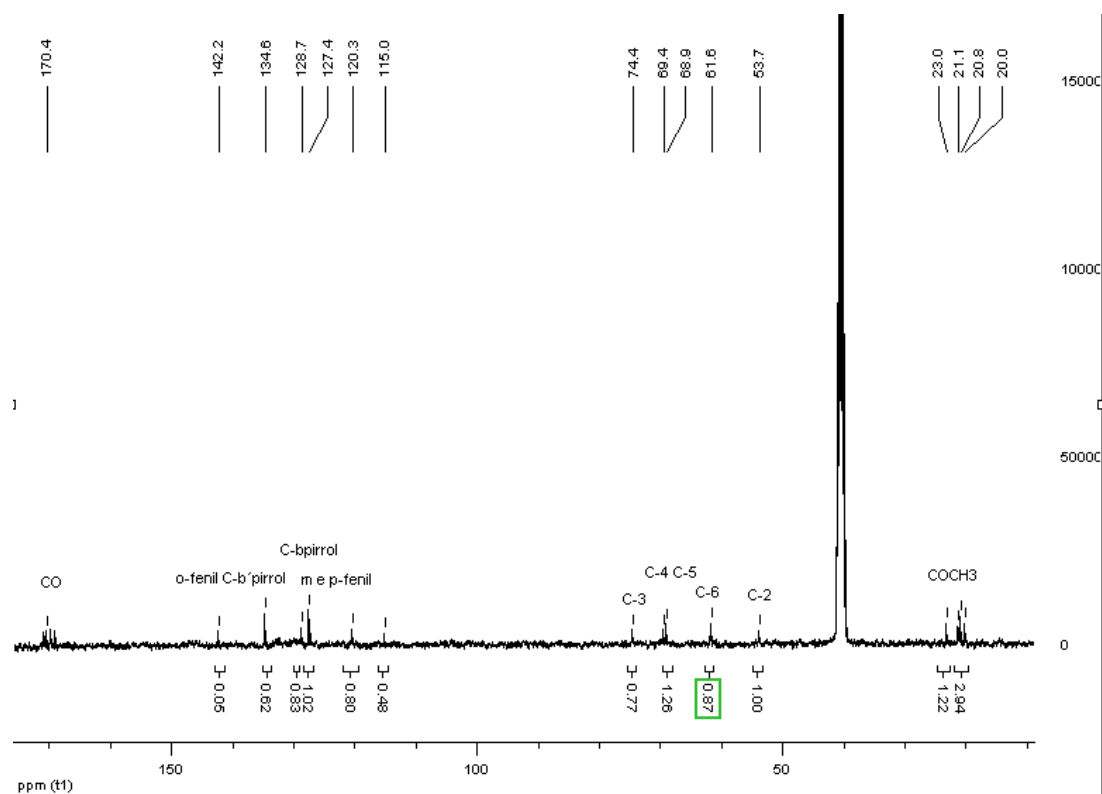
MALDI-TOF do composto **40**



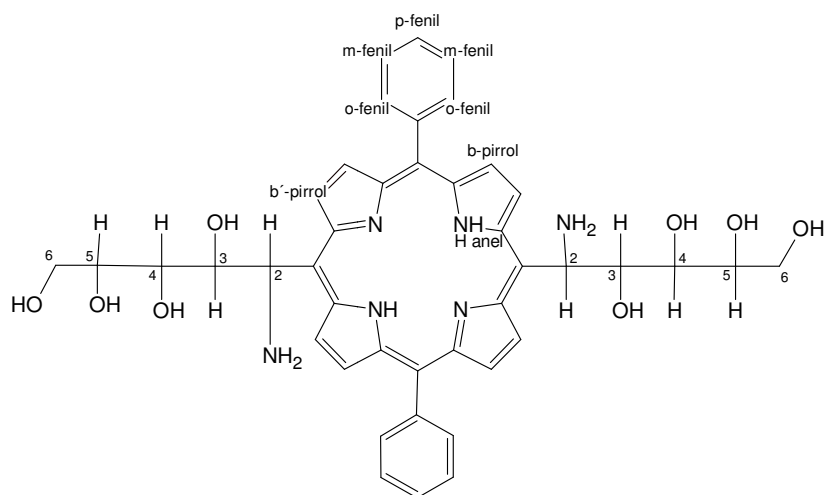
RMN ^1H do composto **40**, DMSO-D_6 , 60°C , 400 MHz



RMN ^{13}C do composto **40**, DMSO-D_6 , 60°C , 400 MHz

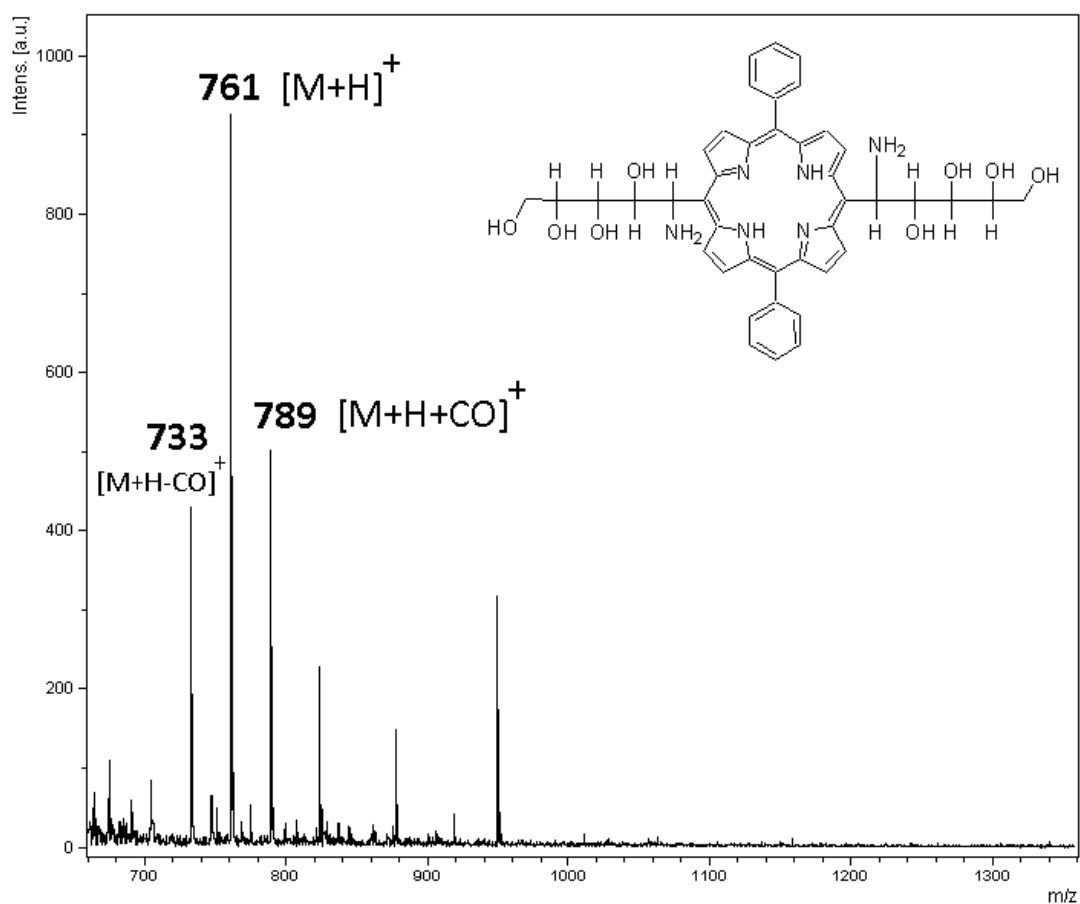


Composto **41**: 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-2-amino-2-desoxi-D-glucitol]porfirina

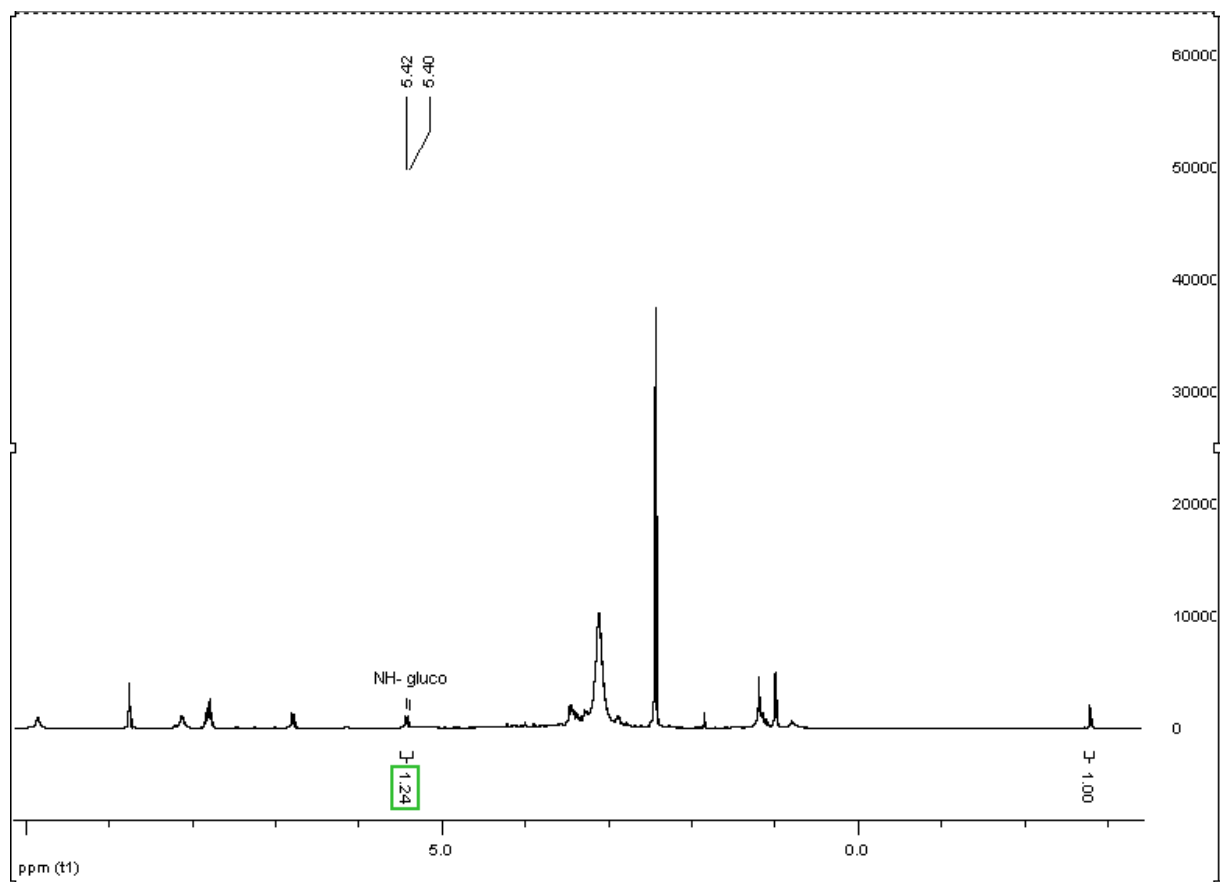


- Material sólido púrpura ($R_f = 0,25$ cm, *clorofórmio:metanol:hidróxido de amônio 14:5:1*)

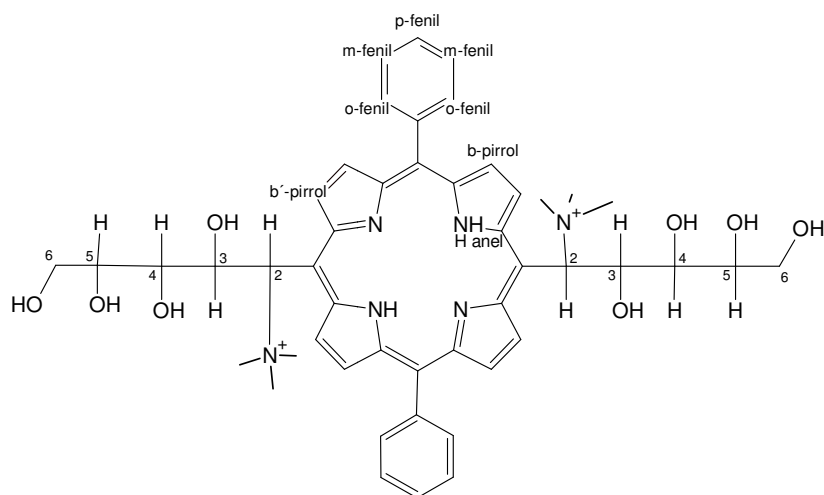
MALDI-TOF do composto **41**



RMN ^1H do composto **41**, DMSO-D_6 , 60°C , 400 MHz



Composto **42**: 5,10-[bis(Fenil)]-10,20-[bis(1-desoxi)-2-trimetilamônio-2-desoxi-D-glucitol]porfirina



- Material sólido púrpura ($R_f = 0,3$ cm, *clorofórmio:metanol:hidróxido de amônio* 14:5:1)

MALDI-TOF do composto **42**

